



ISSN 2241-3081

ΦΑΡΜΑΚΕΥΤΙΚΗ PHARMAKEFTIKI

ΤΡΙΜΗΝΙΑΙΑ ΕΚΔΟΣΗ ΜΕ ΘΕΜΑΤΑ ΦΑΡΜΑΚΕΥΤΙΚΩΝ ΕΠΙΣΤΗΜΩΝ
A QUARTERLY EDITION ON PHARMACEUTICAL SCIENCES' TOPICS

ΤΟΜΟΣ 26 | ΤΕΥΧΟΣ I
VOLUME NUMBER

ΙΑΝΟΥΑΡΙΟΣ - ΜΑΡΤΙΟΣ 2014
JANUARY - MARCH



Galenica



Αδιάκοπη Αναζήτηση της Ίασης



 **Galenica a.e.**

ΑΘΗΝΑ: Ελευθερίας 4, 145 64 Κηφισιά • Τηλ.: 210 5281700, Fax: 210 5245939 • ΘΕΣΣ/ΚΗ: Κουντουριώτου & Φασσιανού 2 • Τηλ.: 2310 542685 • <http://www.galenica.gr>

ΦΑΡΜΑΚΕΥΤΙΚΗ

Τριμηνιαία έκδοση με θέματα
Φαρμακευτικών Επιστημών

Τόμος 26, Τεύχος I, Ιανουάριος - Μάρτιος 2014

ΔΙΕΥΘΥΝΤΗΣ ΣΥΝΤΑΞΗΣ:

A. Τσαντίλη

*Καθηγήτρια, Πανεπιστήμιο Αθηνών
tsantili@pharm.uoa.gr*

ΑΡΧΙΣΥΝΤΑΚΤΗΣ:

Γ. Α. Καρίκας

*Καθηγητής, Τεχνολογικό Εκπαιδευτικό Ίδρυμα Αθηνών
karikasg@teiath.gr*

ΣΥΝΤΑΚΤΙΚΗ ΕΠΙΤΡΟΠΗ

Κ. Δεμετζος,

Καθηγητής, Πανεπιστήμιο Αθηνών

Β. Δημόπουλος,

Καθηγητής, Πανεπιστήμιο Θεσσαλονίκης

N. Κόλμαν, Galenica SA

Χ. Κοντογιώργης,

PhD, Πανεπιστήμιο Θεσσαλονίκης

Π. Κουρουνάκης,

Ομοτ. Καθηγητής, Πανεπιστήμιο Θεσσαλονίκης

Π. Μαχαίρας,

Καθηγητής, Πανεπιστήμιο Αθηνών

Σ. Νικολαρόπουλος,

Αναπλ. Καθηγητής, Πανεπιστήμιο Πατρών

Γ. Πάιρας,

Επίκ. Καθηγητής, Πανεπιστήμιο Πατρών

Ε. Παντερή,

Αναπλ. Καθηγήτρια Πανεπιστήμιο Αθηνών

Δ. Ρέκκας,

Αναπλ. Καθηγητής, Πανεπιστήμιο Αθηνών

e-mail ΓΙΑ ΥΠΟΒΟΛΗ ΕΡΓΑΣΙΩΝ:

tsantili@pharm.uoa.gr

karikasg@teiath.gr

Για την ηλεκτρονική έκδοση της «Φαρμακευτικής»
και οδηγίες προς συγγραφείς επισκεφτείτε την διεύθυνση
www.hsmc.gr

Τα άρθρα που δημοσιεύονται
στην “Φαρμακευτική” καταχωρούνται
στα Chemical Abstracts, EMBASE και Scopus.

PHARMAKEFTIKI

A quarterly edition
on Pharmaceutical Sciences' topics

Volume 26, Issue I, January - March 2014

EDITOR:

A. Tsantili

*Professor, University of Athens
tsantili@pharm.uoa.gr*

CO EDITOR:

G.A. Karikas

*Professor, Technological Educational Institute of Athens
karikasg@teiath.gr*

EDITORIAL BOARD

C. Demetzos,

Professor, University of Athens

V.J. Demopoulos,

Professor, University of Thessaloniki

N. Kolman, Galenica SA

Ch. Kontogiorgis,

PhD, University of Thessaloniki

P. Kourounakis,

Emeritus Professor, University of Thessaloniki

P. Macheras,

Professor, University of Athens

S. Nikolaropoulos,

Associate Professor, University of Patras

G. Pairas,

Assistant Professor, University of Patras

I. Panderi,

Associate Professor, University of Athens

D. Rekkas,

Associate Professor, University of Athens

e-mail FOR MANUSCRIPT SUBMISSION:

tsantili@pharm.uoa.gr

karikasg@teiath.gr

For “Pharmakeftiki” electronic edition
and instructions to authors please visit
www.hsmc.gr

Articles published
in “Pharmakeftiki” are indexed
in Chemical Abstracts, EMBASE and Scopus.

ΑΠΟ ΤΗ ΣΥΝΤΑΞΗ..... 5

ΑΡΘΡΟ ΕΠΙΣΚΟΠΗΣΗΣ

Λιμονοειδή: χημική κατηγορία
πικρών συστατικών με σημαντικές
βιολογικές δράσεις

Όλγα Τζάκου 6-16

ΑΡΘΡΟ ΕΠΙΣΚΟΠΗΣΗΣ

Από την Παραδοσιακή Ιατρική
στην Σύγχρονη Εποχή
των Συνθετικών Φαρμάκων.

Φυσικά Προϊόντα και Ανάστροφη Φαρμακολογία
ως Προσέγγιση που επιταχύνει
την Ανακάλυψη Νέων Φαρμάκων

*Θωμάς Βλαχογιάννη
Σπυρίδων Λωρίδας
Κωνσταντίνος Φωτάκης
Αθανάσιος Βαλαβανίδης* 17-31

ΕΡΕΥΝΗΤΙΚΗ ΕΡΓΑΣΙΑ

Η Σημασία της Συνεχούς Επικαιροποίησης
του Πεδίου Εφαρμογής των Αλγορίθμων
Υπολογισμού του Συντελεστή Μερισμού.

Η Περίπτωση των Παραγώγων
του Πυρρολυλο-Οξικού Οξέος.

*Μάριος Χρυσανθακόπουλος,
Θεοδοσία Βαλλιανάτου,
Βασίλης, Ι. Δημόπουλος,
Αννα Τσαντίλη-Κακουλίδου* 32-39

ΝΕΑ ΕΞΕΛΙΞΕΙΣ..... 40

EDITORIAL..... 5

REVIEW ARTICLE

Limonoids: a chemical class
of bitter components with important
biological activity

Olga Tzakou 6-16

REVIEW ARTICLE

From the Traditional Medicine
to the Modern Era
of Synthetic Pharmaceuticals

Natural Products and Reverse Pharmacology
Approaches in New Drug
Discovery Expedition

*Thomais Vlachogianni,
Spyridon Loridas,
Konstantinos Fiotakis,
Athanasios Valavanidis* 17-31

RESEARCH ARTICLE

The Importance of Continuous Updating
the Applicability Domain of logP
Prediction Models

The Case of Pyrrolyl-Acetic
Acid Derivatives

*Marios Chrysanthakopoulos,
Theodosia Vallianatou,
Vassilis J. Demopoulos,
Anna Tsantili-Kakoulidou* 32-39

NEWS & DEVELOPMENTS..... 40

Γραφείο Διοίκησης Ελληνικής Εταιρείας Φαρμακοχημείας

ZITA ΣΥΝΕΔΡΙΑΚΕΣ
ΚΑΙ ΤΟΥΡΙΣΤΙΚΕΣ ΕΠΙΧΕΙΡΗΣΕΙΣ ΑΕ
1ο χλμ Παιανίας - Μαρκοπούλου
19002, Παιανία, Ελλάδα
Τηλ: +30 211 100 1770-71
E-mail: info@zita-congress.gr

Hellenic Society of Medicinal Chemistry Management Office

ZITA CONGRESS SA
1st klm Peanias-Markopoulou
19002, Peania, Greece
Tel: +30 211 100 1770-71
Email: info@zita-congress.gr

Με το παρόν τεύχος η «Φαρμακευτική» ξεκινά το 26ο έτος της παρουσίας της ως αμιγώς επιστημονικό περιοδικό στο χώρο των Φαρμακευτικών Επιστημών. Στη διάρκεια αυτών των χρόνων η «Φαρμακευτική» έχει αυξήσει σημαντικά την αναγνωρισιμότητά της, ιδιαίτερα μετά την εμφάνιση της στη βάση δεδομένων Scopus του εκδοτικού οίκου Elsevier.

Η «Φαρμακευτική» φιλοξενεί άρθρα ανασκόπησης και ερευνητικά άρθρα, ενώ επιτρέπει τη δημιουργία ειδικών στηλών ανάλογα με τη θεματολογία. Επιδίωξη είναι η δημοσίευση άρθρων που προέρχονται από διαφορετικούς χώρους συναφείς με τις Φαρμακευτικές Επιστήμες ώστε να διαμορφώνεται ένα παράθυρο στην πολύπλευρη ενημέρωση. Επί πλέον η «Φαρμακευτική» παρέχει πληροφόρηση σχετικά με νέα και εξελίξεις στις Φαρμακευτικές Επιστήμες σε θέματα αιχμής, σχετικά με την προβολή ερευνητικών προγραμμάτων στα οποία συμμετέχουν φορείς της χώρας μας καθώς και σχετικά με επιστημονικά δρώμενα (ημερίδες, συνέδρια) στον ελλαδικό και διεθνή χώρο. Η Συντακτική Επιτροπή του περιοδικού αναγνωρίζει την επιτακτική ανάγκη της δια βίου μάθησης σε ένα περιβάλλον δραματικών εξελίξεων στην Επιστήμη και Τεχνολογία αλλά και στις κοινωνικές αλλαγές που επάγουν οι εξελίξεις αυτές και στηρίζει ανάλογες εκδηλώσεις που διοργανώνουν επιστημονικές εταιρείες στον ελλαδικό χώρο. Στα πλαίσια αυτά η «Φαρμακευτική» αγκάλιασε την πρωτοβουλία της Ελληνικής Φαρμακευτικής Εταιρείας η οποία σε συνεργασία με τοπικούς φαρμακευτικούς συλλόγους οργανώνει ημερίδες επιμόρφωσης φαρμακοποιών. Το παρόν τεύχος σε σχετική στήλη δημοσιεύει συνοπτική αναφορά των τριών πρώτων ημερίδων που ήδη έλαβαν χώρα μέσα στον Μάρτιο.

Πιστεύουμε ότι έκδοση ενός επιστημονικού περιοδικού είναι εφικτή πρωτίστως με τη στήριξη των επιστημόνων και επιστημονικών ομάδων που ασχολούνται ερευνητικά σε σχετικά αντικείμενα. Για το λόγο αυτό η Συντακτική Επιτροπή εκφράζει τις ευχαριστίες της τόσο στους συγγραφείς των άρθρων που δημοσιεύτηκαν το 2013 όσο και στους κριτές που συνέβαλαν με τα σχόλια και τις διορθώσεις τους στην βελτίωση της ποιότητας των δημοσιεύσεων. Ευελπιστούμε σε αντίστοιχη ενεργητική συμμετοχή και για το 2014.

Λιμονοειδή: χημική κατηγορία πικρών συστατικών με σημαντικές βιολογικές δράσεις

Όλγα Τζάκου

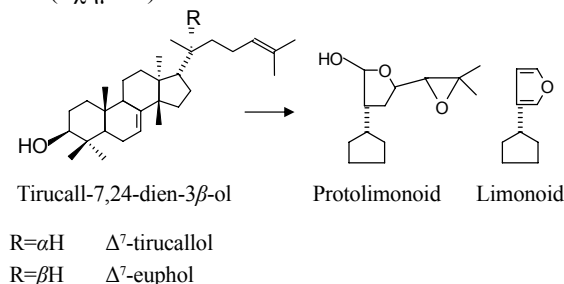
Τομέας Φαρμακογνωσίας και Χημείας Φυσικών Προϊόντων, Τμήμα Φαρμακευτικής,
Πανεπιστήμιο Αθηνών, Πανεπιστημιούπολη Ζωγράφου, 157 71.

Περίληψη

Στο παρόν άρθρο επιχειρείται μία σύντομη ανασκόπηση των φυσικά ευρισκομένων λιμονοειδών, τα οποία έχουν απομονωθεί από φυτά των οικογενειών Rutaceae και Meliaceae. Τα λιμονοειδή (περισσότερες από 300 ενώσεις) συνιστούν μία στερεοχημικά ομοιογενή ομάδα τα τετρανορτριτερπένια, τα οποία βρίσκονται μόνο στις οικογένειες Meliaceae, Rutaceae, Cneoraceae και στο γένος *Harrisonia* της οικογένειας Simaroubaceae. Παρουσιάζονται οι ομάδες των λιμονοειδών, η βιοσύνθεση και οι κύριες βιολογικές δράσεις τους. Αρκετά λιμονοειδή είναι σημαντικά αντιτροφικά μέσα, με την αζαδιραχτίνη να είναι το πλέον ισχυρό.

1. Εισαγωγή

Τα λιμονοειδή (περισσότερες από 300 ενώσεις) είναι πικρά συστατικά, παράγωγα τετρανορτριτερπενίων και βρίσκονται στις στενά σχετιζόμενες οικογένειες Meliaceae, Rutaceae, Cneoraceae και στο γένος *Harrisonia* της οικογένειας Simaroubaceae^{1,2,3}. Οι τριτερπενικές αλκοόλες Δ⁷-τιρουκαλλόλη ή Δ⁷-εουφόλη πιστεύεται ότι είναι οι βιογενετικά πρόδρομες ενώσεις αυτών των τροποποιημένων τριτερπενίων. Προκύπτουν μετά από σειρά δομικών αλλαγών, όπου η τριτερπενική πλευρική αλυσίδα πρώτα οξειδώνεται σε ένα β-υποκατεστημένο φουρανικό δακτύλιο (Σχήμα 1)⁴.



Σχήμα 1. Δομικές αλλαγές από την Τιρουκαλλόλη στο Λιμονοειδές

2. Ορισμός

Ένα λιμονοειδές είναι παράγωγο τριτερπενίων όπου η πλευρική αλυσίδα έχει μετατραπεί σε φουρανικό δακτύλιο με απώλεια 4 ατόμων άνθρακα προκύπτοντας έτσι το εναλλακτικό όνομα τετρανορτριτερπένια για τα λιμονοειδή⁵.

Τα λιμονοειδή έχουν ένα φουρανικό δακτύλιο συνδεδεμένο ως πλευρική αλυσίδα στον C-17 ενός κυκλοπεντενοφαινανθρενικού σκελετού, ο οποίος μπορεί να έχει υποστεί οξειδωτικά ανοίγματα ενός ή περισσοτέρων δακτυλίων. Σε μερικές ενώσεις ένα άτομο άνθρακα χάνεται με αποκαρβοξυλίωση στον C-4 και σε λίγες ο φουρανικός δακτύλιος αντικαθίσταται από έναν διαφορετικό ετεροκυκλικό πενταμερή δακτύλιο. Το σύστημα αρίθμησης για τα λιμονοειδή είναι το ίδιο όπως για τις βιογενετικά πρόδρομες ενώσεις τα τετρακυκλικά τριτερπένια⁵.

Η βοτανική κατανομή και η χημειοταξινόμια των λιμονοειδών, ειδικά των οικογενειών Rutaceae και Meliaceae έχουν μελετηθεί εκτενέστατα⁷⁻¹⁰.

3. Λιμονοειδή των Rutaceae

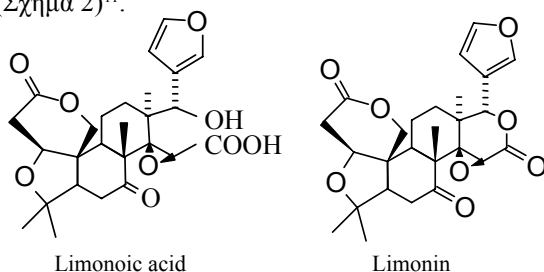
Είναι μία οικογένεια φυτών με μεγάλη και ποικίλη βιοσυνθετική ικανότητα (αλκαλοειδή, κουμαρίνες, φλαβονόες, λιμονοειδή κ.α.). Τα λιμονοειδή που απαντούν στα Rutaceae διαφέρουν κυρίως στη δομή του δακτυλίου Α και συνδέονται βιογενετικά με τη λιμονίνη¹¹.

Η λιμονίνη, το κύριο λιμονοειδές στα σπέρματα των *Citrus*, είναι γνωστή από το 1841¹²⁻¹⁴. Ένα πιθανό βιοσυνθετικό μονοπάτι για το σχηματισμό λιμονίνης από τη Δ⁷-τιρουκαλλόλη έχει προταθεί από τους Arigoni et al.¹². Η παρουσία σχετικών μεταβολιτών σε διάφορα φυτά που συνθέτουν και συσσωρεύουν λιμονίνη υποστηρίζει το συγκεκριμένο βιοσυνθετικό μονοπάτι. Μέλη του γένους *Citrus* βιοσυνθέτουν νομιλίνη μόνο στα φύλλα και στους βλαστούς. Ο μεταβολίτης αυτός εμφανίζεται να μετακινείται σε άλλα

τμήματα του φυτού (π.χ. καρπούς) και στη συνέχεια μετασχηματίζεται¹⁵.

Η παρουσία της λιμονίνης είναι υπεύθυνη για την έντονη πικράδα που αναπτύσσεται σταδιακά στους χυμούς από καρπούς *Citrus*¹⁶. Η λιμονίνη συνεισφέρει στη πικράδα προϊόντων προερχομένων από γκρέιπφρουτ, αν και η φλαβονόη ναριγγενίνη είναι η κατεξοχήν υπεύθυνη ουσία για τη πικράδα των γκρέιπφρουτ¹⁷. Η λιμονίνη δεν προκαλεί πικράδα σε φρεσκοφτιαγμένο χυμό δεν υπάρχει, αναπτύσσεται μόνο μετά από θέρμανση του χυμού ή αν παραμείνει ο χυμός 12-24 h^{18,19}.

Το λιμονοϊκό οξύ είναι σταθερό στο σχεδόν ουδέτερο pH των ιστών. Όταν τα τείχη των μεμβρανών διαρρηγνύονται (όταν φτιάχνουμε τον χυμό) η μορφή αυτή με τον ανοιγμένο δακτύλιο, το λιμονοϊκό οξύ κλείνει σε λιμονίνη στον όξινο χυμό με pH~3,5 (Σχήμα 2)¹¹.



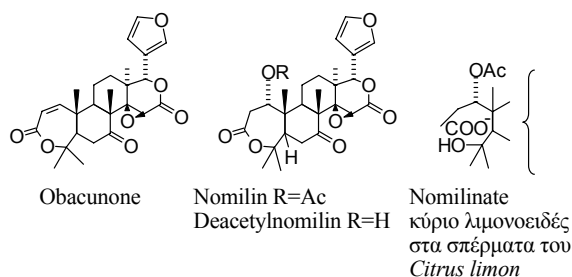
Σχήμα 2. Δομές Λιμονοϊκού οξέος και Λιμονίνης

Βάσει της διάδοσης των Λιμονοειδών στα Rutaceae μπορούν να εξαχθούν κάποια γενικά συμπεράσματα, τα οποία πέρα από τη πιθανή χημειοταξινόμική αξία, αποτελούν χρήσιμο οδηγό στην έρευνα και άλλων λιμονοειδών^{8,11}.

- Τα λιμονοειδή απαντώνται και στις τρεις υποοικογένειες των Rutaceae, αλλά η συχνότητα της παρουσίας τους δεν είναι τόσο υψηλή όσο στην οικογένεια Meliaceae, όπου αναφέρεται να απαντώνται στο 25% των γενών της.
- Τα λιμονοειδή παρουσιάζουν χαμηλή συχνότητα εμφάνισης στην οικογένεια Rutaceae, όπου έχουν αναφερθεί μόνο στο 1% των γενών αυτής. Αν υπάρχουν λιμονοειδή σε ένα είδος κάποιου γένους των Rutaceae, τότε όλα τα είδη του γένους αυτού τα περιέχουν (π.χ. *Citrus*: στα εξετασθέντα 15 είδη από τα 16 γνωστά, *Phellodendron*: στα 5 από τα 7 γνωστά είδη, *Casimiroa*: στα 2 από τα 5 γνωστά είδη). Αυτή η κανονικότητα δεν εμφανίζεται στα Meliaceae όπου κάποια είδη ενός γένους παράγουν λιμονοειδή, ενώ άλλα είδη του ίδιου γένους έχει αναφερθεί ότι τα στερούνται¹⁰.
- Γενικά η κατανομή και οι σχέσεις δομής των λιμονοειδών στα Rutaceae ενισχύουν την χημειο-

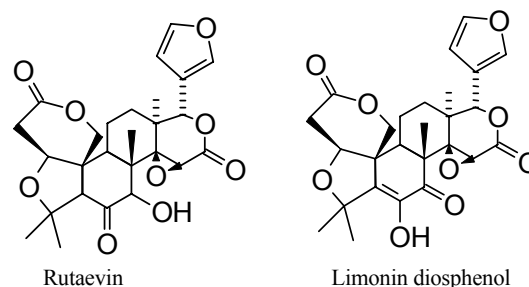
ταξινόμική τους κατάταξη που είχε γίνει βάσει των αλκαλοειδών και των κουμαρινών, τα οποία βρίσκονται σε τεράστια ποικιλία στην οικογένεια αυτή.

- Τα λιμονοειδή που παράγονται σε ένα γένος έχουν όλα περίπου τον ίδιο βαθμό οξείδωσης π.χ. τα γένη *Vespris* και *Casimiroa* δείχνουν την δυνατότητα να συνθέτουν πρόδρομες ενώσεις της λιμονίνης. Τα είδη *Phellodendron* παράγουν κυρίως οβακουνόη και σχετικά λίγη λιμονίνη. Και τα 3 γένη που αναφέρθηκαν ανήκουν στην υποοικογένεια Toddalioideae (24 γένη). Τα *Citrus* sp. και τα συγγενή τους γένη (υποοικ. Aurantioideae, 33 γένη) περιέχουν κυρίως λιμονίνη, τη βασική πρόδρομη ένωση όλων των λιμονοειδών των *Citrus*. Η λιμονίνη συνοδεύεται συνήθως από 3 πικρά συστατικά που βρίσκονται σε μικρότερες ποσότητες και παρουσιάζονται στο Σχήμα 3.



Σχήμα 3. Δομές πικρών συστατικών που συνοδεύουν τη Λιμονίνη

- Στα *Citrus* έχουν βρεθεί γλυκοσίδες λιμονοειδών μόνο στους καρπούς και στα σπέρματα, οι οποίοι βιοσυντίθεται στα τελευταία στάδια ανάπτυξης και ωρίμανσης των καρπών.
- Μέλη της υποοικογένειας Rutoideae (86 γένη) δεν φέρουν πρόδρομες ενώσεις της λιμονίνης, αλλά παράγουν μόνο λιμονίνη και προϊόντα οξείδωσης της όπως λιμονίνη διοσφαινόλη και ρουταεβίνη (Σχήμα 4).



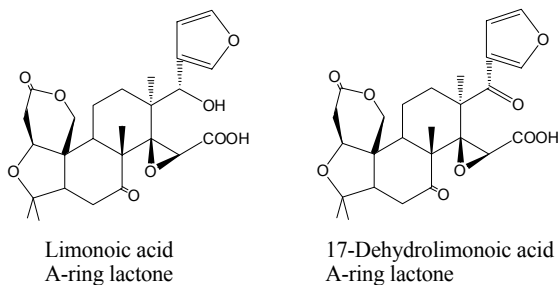
Σχήμα 4. Δομές της Ρουταεβίνης και της Διοσφαινόλης της Λιμονίνης

3.1. Λιμονίνη στο χυμό πορτοκαλιού

Οι καρποί ειδών *Citrus* συνιστούν μία από τις πιο σημαντικές αγροτικές συγκομιδές στον κόσμο. Η παραγωγή είναι τουλάχιστον 45 εκ. τόνοι, από τους οποίους περίπου 45% μετατρέπεται σε μία ποικιλία κατεργασμένων προϊόντων¹⁸. Μετά την παραλαβή του χυμού από καρπούς *Citrus*, ιδιαίτερα του χυμού πορτοκαλιού, πρόδρομες ενώσεις που υπάρχουν στο χυμό μετατρέπονται σε πικρά λιμονοειδή, πρωταρχικά σε λιμονίνη και σε μικρότερο βαθμό σε νομιλίνη. Η πικρή γεύση της λιμονίνης μπορεί να ανιχνευθεί σε συγκεντρώσεις κυμαινόμενες από 0,075 έως 5 ppm³. Στην Καλιφόρνια στις αντίστοιχες βιομηχανίες χυμών η οικονομική απώλεια λόγω ανάπτυξης ανεπιθύμητης πικράδας σε προϊόντα χυμού, εκτιμάται σε 8 εκ. δολάρια το χρόνο.

Η βιοσύνθεση των λιμονοειδών δεν γίνεται στους καρπούς ή στα σπέρματα, παρά το γεγονός ότι οι μεγαλύτερες ποσότητες λιμονίνης και ανάλογων ενώσεων βρίσκονται στα σπέρματα ώριμων καρπών²⁰. Η σύνθεση των λιμονοειδών γίνεται στα φύλλα και στη συνέχεια οι ενώσεις αυτές μεταφέρονται στους καρπούς. Στους ιστούς *Citrus* η φυσική πρόδρομη ένωση της λιμονίνης είναι ένα άλας του λιμονοϊκού οξέος με λακτόνη στον Α-δακτύλιο. Αυτή η άγευστη ένωση είναι σταθερή μόνο υπό τη μορφή αλάτος²⁰. Με την παρουσία οξέος ή του ενζύμου citrus limonoate D-ring υδρολάση, ο D-δακτύλιος λακτονοποιείται σχηματίζοντας λιμονίνη. Με τη παστερίωση του χυμού επιταχύνεται η λακτονοποίηση του μορίου. Στους καρπούς η πρόδρομη ένωση εμφανίζεται να είναι εντοπισμένη σε διαμέρισμα του κυττάρου όπου το pH είναι ουδέτερο ή αλκαλικό, πιθανά στο κυτόπλασμα²⁰.

Ένας αριθμός μεθόδων έχουν αναπτυχθεί που εμποδίζουν το σχηματισμό λιμονίνης στο χυμό πορτοκαλιού. Έχουν αναφερθεί πέντε είδη βακτηρίων που έχουν την ικανότητα να μεταβολίζουν την λιμονίνη. Η χρήση κυττάρων *Anthrobacter globiformis* είναι αποτελεσματική σε κατάλληλο pH (όπου είναι ενεργά τόσο η limonin D-ring lactone υδρολάση όσο και η limonoate δεϋδρογονάση του βακτηρίου). Μετατρέπουν τη λιμονίνη σε μη πικρό δεϋδρο- παράγωγο (Σχήμα 5)²¹⁻²⁴.



Σχήμα 5. Δομές του Λιμονοϊκού οξέος Α-λακτόνης και του 17-Δεϋδροπαραγώγου του.

3.2. Λιμονοειδή των Meliaceae

Η οικογένεια αυτή συγκαταλέγεται ανάμεσα στις πιο χρήσιμες για τον άνθρωπο κυρίως για την υψηλή ποιότητα ξυλεία που παρέχει [*acajous d'Afrique* (*Khaya grandifolia*, *K. luorensis*), *acajous du Hondura* (*Swietenia macrophylla*), *sipo* (*Endantophragma utile*)], καθώς και από το γεγονός ότι κάποια είδη της μπορούν εύκολα να χρησιμοποιηθούν σε αναδασώσεις. Είναι οικογένεια των τροπικών κυρίως χωρών και τα είδη της απαντούν σε ποικιλία βιοτόπων από βροχερά τροπικά δάση, σε ελώδεις περιοχές και σε ημιερήμους²⁵.

Χημικά η οικογένεια αυτή ξεχωρίζει από τη συχνή παρουσία εξαιρετικά χαρακτηριστικών λιμονοειδών. Τα λιμονοειδή των Meliaceae έχουν μεγαλύτερη ποικιλομορφία στη δομή και είναι πιο σύνθετα από εκείνα των Rutaceae. Υπάρχει μία ποικιλία από απλά σχετικά ενώσεις μέχρι ισχυρά τροποποιημένα τριτερπένια που έχουν υποστεί εκτεταμένες μεταβολές στη δομή τους. Πολλά λιμονοειδή είναι διαθέσιμα σε πολύ μεγάλες ποσότητες. Η ξυλεία κάποιων ειδών μπορεί να έχει απόδοση 1% σε απομονωμένο σε κρυσταλλική μορφή λιμονοειδές⁵. Η μελέτη των λιμονοειδών της οικογένειας Meliaceae ξεκίνησε το 1960 με την απομόνωση της γεντουνίνης από το δυτικοαφρικανικό δένδρο για τη παραγωγή ξυλείας *Entandrophragma angolense*²⁶. Στη συνέχεια πολλά λιμονοειδή (περισσότερα από 300) έχουν απομονωθεί από διάφορα φυτά⁵.

Τα περισσότερα λιμονοειδή έχουν ισχυρή αντιτροφική δράση για τα έντομα²⁷⁻²⁹. Η δράση μπορεί να είναι τόσο ισχυρή, ώστε τα έντομα προτιμούν να λιμοκτονήσουν από το να φάνε φύλλα που περιέχουν λιμονοειδή. Πιθανά αυτό να είναι το βιολογικό πλεονέκτημα της παρουσίας των λιμονοειδών στα Meliaceae. Κάποια λιμονοειδή βρέθηκαν να είναι δραστικά έναντι κάποιων τύπων καρκίνου³⁰, με τη δράση να εντοπίζεται σε κάποια μόρια της ομάδας της χαβανενσίνης και πριευριανίνης που έχουν δακτύλιους με 14, 15 εποξείδιο.

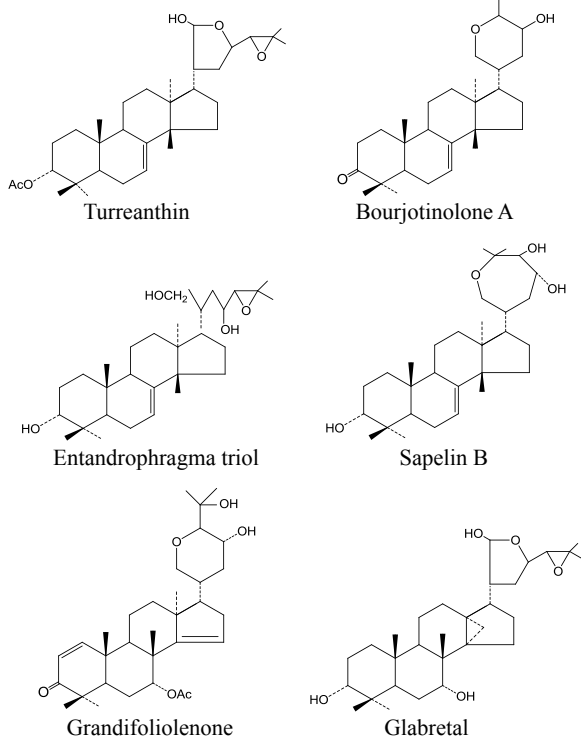
4. Ομάδες Λιμονοειδών

Τα λιμονοειδή κατατάσσονται σε ομάδες βάσει του ποιος από τους 4 δακτύλιους του τριτερπενικού πυρήνα έχει οξειδωθεί. Αν συμπεριληφθούν και τα πρωτολιμονοειδή προκύπτουν 16 ομάδες συνδυασμών από τις οποίες 10 είναι γνωστές. Πιθανές ομάδες που δεν έχουν βρεθεί μέχρι σήμερα είναι εκείνες στις οποίες οι δακτύλιοι Α και C, Β και C, Α, Β, και C είναι οξειδωμένοι⁵.

I. Ομάδα Πρωτολιμονοειδών

Υπάρχει ένας αριθμός οξειδωμένων τριτερπενίων με άθικτο τον τριτερπενικό σκελετό τα οποία

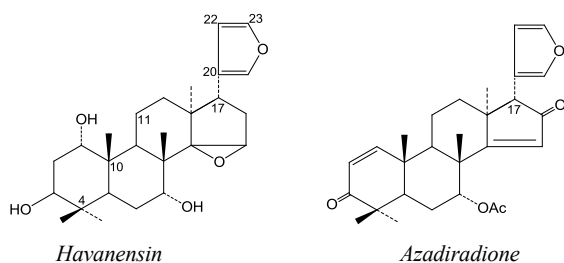
θεωρούνται βιοχημικοί πρόδρομοι των λιμονοειδών. Αυτές οι ενώσεις είναι γνωστές ως πρωτολιμονοειδή (Σχήμα 6) και βρίσκονται στις οικογένειες Meliaceae και Rutaceae. Συνήθως είναι ισχυρά οξειδωμένα και φέρουν ένα αιθερικό δακτύλιο. Όταν στα πρωτολιμονοειδή διατηρείται η στεreoχημεία του C-20 των τριτερπενίων, βρέθηκε να είναι συνήθως η στεreoχημεία 20 α -H, χαρακτηριστική της τιρουκαλλόλης, αλλά υπάρχουν και παραδείγματα με 20 β -H (στεreoχημεία εουφόλης). Τα γνωστά πρωτολιμονοειδή που έχουν την στεreoχημεία της εουφόλης απαντώνται όλα στο γένος *Melia*, ενώ τα παράγωγα τιρουκαλλόλης στα άλλα γένη^{5,6}.



Σχήμα 6. Πρωτολιμονοειδή

II. Ομάδα Χαβανενσίνης

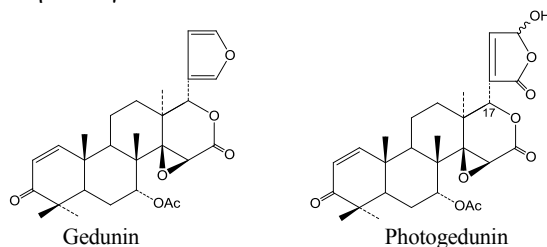
Περιλαμβάνει ενώσεις με ένα φουράνιο ως πλευρική αλυσίδα, ενώ όλοι οι δακτύλιοι του πυρήνα παραμένουν ανέπαφοι³¹⁻³⁸.



Σχήμα 7. Μεταβολίτες της ομάδας της Χαβανενσίνης

III. Ομάδα Γεντουνίνης

Ο δακτύλιος D είναι οξειδωμένος. Σε αυτή την ομάδα ανήκουν τα πρώτα λιμονοειδή που βρέθηκαν στην οικογένεια Meliaceae³⁹⁻⁴⁶.

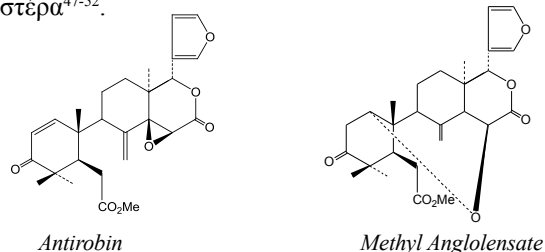


Σχήμα 8. Μεταβολίτες της ομάδας της Γεντουνίνης

IV. Οξειδωμένοι οι δακτύλιοι B και D

a. Ομάδα Αντιρομπίνης

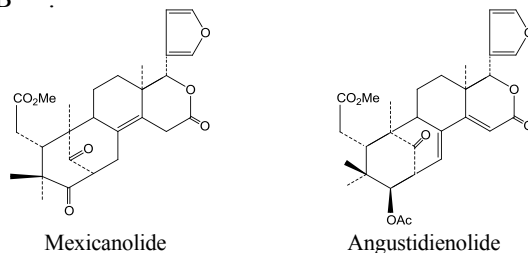
Ο B δακτύλιος είναι οξειδωμένος σε λακτόνη ή εστέρα⁴⁷⁻⁵².



Σχήμα 9. Μεταβολίτες της ομάδας της Αντιρομπίνης

b. Ομάδα Μεξικανολιδίου

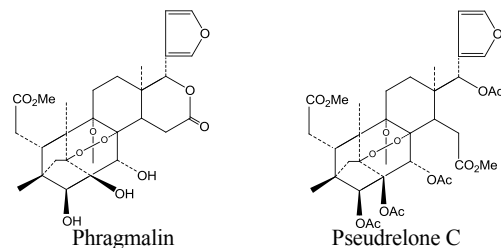
Κυκλοποίηση, σχηματισμός ενός νέου δακτυλίου B⁵³⁻⁶⁰.



Σχήμα 10. Μεταβολίτες της ομάδας του Μεξικανολιδίου

c. Ομάδα Φραγμαλίνης

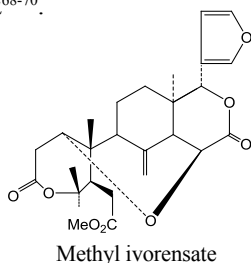
Επιπρόσθετη κυκλοποίηση στο δακτύλιο A⁶¹⁻⁶⁷. Όλες οι ενώσεις της ομάδας αυτής περιέχουν ορθοεστέρα είτε στις θέσεις 8, 9, 14, είτε στις θέσεις 1, 8, 9.



Σχήμα 11. Μεταβολίτες της ομάδας της Φραγμαλίνης

V. Ομάδα Μεθυλεστέρα Ιβορενσικού οξέος

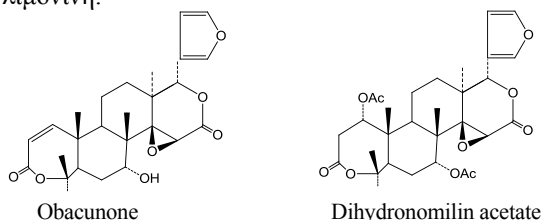
Οξειδωμένοι οι δακτύλιοι A, B, και D. Μικρή σχετική ομάδα⁶⁸⁻⁷⁰.



Σχήμα 12. Μεθυλεστέρας του Ιβορενσικού οξέος

VI. Ομάδα Οβακουνόλης

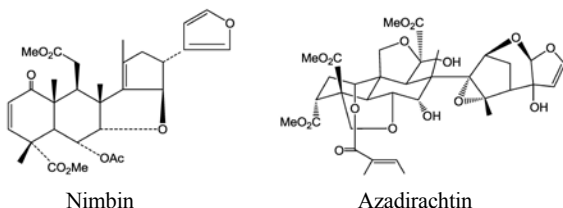
Οξειδωμένοι οι δακτύλιοι A και D^{56, 71-75}. Είναι χαρακτηριστική ομάδα των Rutaceae, πιο σπάνια απαντώμενη στα Meliaceae. Στην ομάδα αυτή ανήκει η λιμονίνη.



Σχήμα 13. Μεταβολίτες της ομάδας της Οβακουνόλης

VII. Ομάδα Νιμπίνης

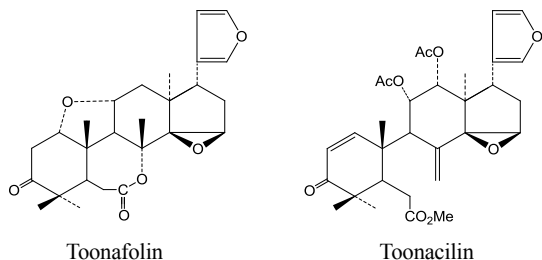
Οξειδωμένος ο δακτύλιος C. Μία μεγάλη και σημαντική ομάδα. Περιλαμβάνει μερικά εξαιρετικά σύνθετα μόρια, όπως την αζαδιραχτίνη την 'απόλυτη' αντιτροφική ουσία⁷⁶⁻⁸⁴.



Σχήμα 14. Μεταβολίτες της ομάδας της Νιμπίνης

VIII. Ομάδα Τουναφολίνης

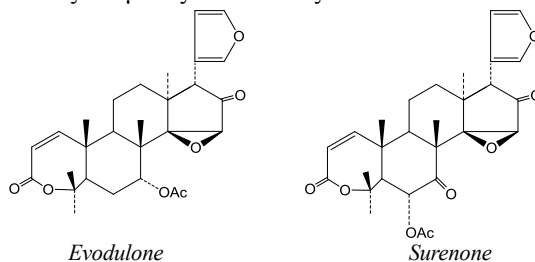
Οξειδωμένος ο δακτύλιος B⁸⁵.



Σχήμα 15. Μεταβολίτες της ομάδας της Τουναφολίνης

IX. Ομάδα Εβοδουλόνης

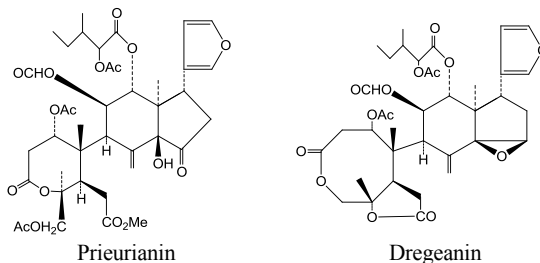
Οξειδωμένος ο δακτύλιος A⁸⁶⁻⁸⁸.



Σχήμα 16. Μεταβολίτες της ομάδας της Εβοδουλόνης

X. Ομάδα Πριευριανίνης

Οξειδωμένοι οι δακτύλιοι A και B⁸⁹⁻⁹³.



Σχήμα 17. Μεταβολίτες της ομάδας της Πριευριανίνης

5. Βιολογική δράση

Πολλά τροποποιημένα τριτερπένια περιέχουν εποξειδία, λακτόνες, φουράνια και κυκλοπεντανοϊκά συστήματα τα οποία συνιστούν λειτουργικές μονάδες που συνδέονται με βιολογική δράση σε άλλες ομάδες φυτικών μεταβολιτών. Ορισμένες ενώσεις της ομάδας αυτής έχουν πικρή γεύση για τον άνθρωπο και πιθανά και για άλλα θηλαστικά³. Τόσο τα βλαστητικά φυτικά τμήματα, όσο και το ξύλο πολλών φυτών των οικογενειών Rutaceae, Meliaceae και Simaroubaceae είναι ανθεκτικά σε επιθέσεις εντόμων. Πολλά λιμονοειδή εμφανίζουν μία ποικιλία βιολογικών δράσεων.

Αντιτροφικές ιδιότητες

Πολλά λιμονοειδή από τις οικογένειες Rutaceae, Meliaceae και Simaroubaceae είναι παράγοντες παρεμποδίσσεως διατροφής εντόμων. Αυτές οι ενώσεις έχουν ερευνηθεί εκτενώς, καθώς μπορούν να οδηγήσουν στη δημιουργία βιοδιασπώμενων εντομοκτόνων και αντιτροφικών μέσων.

Παρά το γεγονός ότι εκχυλίσματα σπερμάτων πολλών φυτών της οικογένειας Meliaceae έχουν πολλές ενδιαφέρουσες βιολογικές δράσεις, το πιο γνωστό παράδειγμα είναι εκχύλισμα από το δέντρο neem⁹⁴. Το δέντρο neem, *Azadirachta indica* (Meliaceae), είναι ιθαγενές στην Ινδία, αλλά αναπτύσσεται συνήθως στην εγγύς Ανατολή και σε ορισμένες περιοχές της

Αφρικής. Εκχυλίσματα από το έλαιο των σπερμάτων έχουν τόσο εντομοκτόνες, όσο και αντιτροφικές ιδιότητες⁹⁴⁻⁹⁶ και έχουν αναφερθεί τουλάχιστον 200 είδη εντόμων και ακάρεων που επηρεάζονται³. Στο Ισραήλ, έχει διαπιστωθεί ότι η ακρίδα της ερήμου, *Schistocerca gregaria*, ένα έντομο γενικά γνωστό ότι τρώει σχεδόν όλα τα φυτά, δεν τρώει το δέντρο neem. Εκχυλίσματα σπερμάτων δέντρων neem είναι απωθητικά σε χαμηλές συγκεντρώσεις. Η πλέον δραστική ένωση είναι το τετρανορτριτερπένιο αζαδιραχτίνη^{80-82,94}. Η αζαδιραχτίνη έχει 100 % αναστολή σίτισης στα 40 mg/λίτρο έναντι της *Schistocerca gregaria*. Η αζαδιραχτίνη έχει τιμή EC₅₀ 0,36 ppm κατά προνυμφών του σκώρου *Peridroma saucia*³. Αντίθετα, η αζαδιραχτίνη δεν εμφάνισε αντιτροφική δράση έναντι νυμφών της μεταναστευτικής ακρίδας *Melanoplus sanguinipes*, παρόλο που η τοπική ED₅₀ ήταν 4,5 mg/g εντόμων³. Η παρεμπόδιση σίτισης περιλαμβάνει αλληλεπίδραση ενός συνόλου αισθητηριακών υποδοχέων, ενώ οι τοξικές επιδράσεις αφορούν κατά πάσα πιθανότητα διαφορετικά συστήματα στο έντομο.

Η τοξικότητα της αζαδιραχτίνης στα έντομα όταν καταναλώνεται από αυτά φαίνεται να περιλαμβάνει τη νευροενδοκρινική ρύθμιση των επιπέδων των ορμονών νεότητας και έκδυσης. Τα λιμονοειδή που περιέχονται σε εκχυλίσματα του δένδρου neem διαφέρουν αλλά δεν είναι ανάλογα με τις στερόλες στις οποίες ανήκουν οι ορμόνες των εντόμων. Ένα έντομο που έχει φάει ίχνη από αυτές τις ουσίες επηρεάζεται βαθιά, γιατί αυτές οι "ορμονικά μιμητικές" ουσίες μπλοκάρουν τα τμήματα του εγκεφάλου που παράγουν τις απαραίτητες ορμόνες για την ανάπτυξη του εντόμου. Μπλοκάρουν το ενδοκρινικό τους σύστημα⁹⁴.

Εκχυλίσματα δέντρων neem έχουν δείξει βιολογική δράση έναντι μίας ποικιλίας διαφορετικών νηματωδών. Για παράδειγμα, εκχύλισμα σπερμάτων neem εφαρμόστηκε σε φυτά τομάτας με διαβροχή της ρίζας σε συγκέντρωση 125 mg/ml και ανέστειλε την αναπαραγωγή του νηματώδους σκώληκα *Meloidogyne iavanica* που προκαλεί σήψη της ρίζας. Η αζαδιραχτίνη σε συγκέντρωση 10 mg/ml, ανέστειλε την απελευθέρωση εμβρύων του νηματώδους παρασίτου ζών *Brugia pahangi*. Ένα παρόμοιο τρόπο δράσης μπορούν να έχουν οι φυτοπαρασιτικοί νηματώδεις σκώληκες⁹⁴.

Περίεργως, όταν η αζαδιραχτίνη χορηγείται ως μέρος ενός γεύματος αίματος του εντόμου *Rhodnius prolixus*, ένα φορέα της νόσου του Chagas, μετέπεται παρασιτική προσβολή του αρθρόποδου από το τρυπανόσωμα *Trypanosoma cruzi* παρεμποδίζεται, αλλά η αζαδιραχτίνη δεν είναι άμεσα τοξική για το

τρυπανόσωμα⁹⁷. Άλλες ενώσεις από την *Azadirachta indica*, συμπεριλαμβανομένων της λιμονίνης, νομιλίνης, νιμπίνης, σαλαννίνης, είναι επίσης αντιτροφικές ουσίες⁹⁴.

Ένα άλλο ευρέως καλλιεργούμενο δέντρο της οικογένειας Meliaceae είναι η *Melia azadirachta* (Persian lilac), η οποία φέρει επίσης μία ποικιλία τοξικών λιμονοειδών. Αυτό το δέντρο είναι γνωστό για τις καθαρτικές, εμετικές ανθελμινθικές ιδιότητες του. Οι μελιατοξίνες A1, B1, A2 και B2, είναι οι ενώσεις που είναι κυρίως υπεύθυνες για τη τοξικότητα των καρπών ορισμένων ποικιλιών του δένδρου αυτού⁹⁸. Οι καρποί αυτοί είναι ιδιαίτερα τοξικοί για χοίρους⁹⁸. Η μελιανόνη από τα φύλλα της *Melia azadirachta* έχει αντιτροφική δράση, ενώ η μελιαντριόλη από τον καρπό της, αναστέλλει τη πρόσληψη τροφής της ακρίδας της ερήμου *Schistocerca gregaria*²⁷.

Η τουσενδανίνη από το κινεζικό είδος *Melia toosendan* εμφανίζει δράση τόσο ισχυρή όσο εκείνη της αζαδιραχτίνης κατά προνυμφών του εντόμου *Spodoptera litura* και έχει καλύτερη δράση από εκείνη της αζαδιραχτίνης κατά του λεπιδόπτερου *Scirpophaga incertulas* και του ασιατικού παρασιτικού εντόμου καλαμποκιού, *Ostrinia furnacalis*⁹⁹.

Παρά το γεγονός ότι το δέντρο neem είναι ευρέως γνωστό, λιμονοειδή και από άλλες πηγές έχουν επίσης μελετηθεί για τη σημαντική επίδρασή τους στη σίτιση και ανάπτυξη εντόμων³. Εκτός από τα C-seco λιμονοειδή (όπως η αζαδιραχτίνη), οι πιο δραστικές ενώσεις φαίνεται να είναι τα λιμονοειδή αρουροφόλης με 14,15-εποξειδίο και με είτε μία 19/28 γέφυρα λακτόλης, είτε με ένα A-δακτύλιο κυκλοεξονόνης³, όπως την ανθοθεκόλη, κεδρελόνη, σενδανίνη, τριχιροκανίνη, τουσενδανίνη και μελιασίνη A2.

Ορισμένα άλλα εκχυλίσματα σπερμάτων της οικογένειας Meliaceae βρέθηκαν εξίσου δραστικά με την αζαδιραχτίνη σε βιολογικές δοκιμασίες¹⁰⁰. Εκχυλίσματα από το δένδρο *Aglaia cordata* ήταν πιο ισχυρά από ό, τι εκχυλίσματα του neem έναντι προνυμφών *Spodoptera frugiperda*¹⁰¹. Ένα λιμονοειδές από τη *Carapa procera* είχε αντιτροφική δράση συγκρίσιμη με εκείνη της αζαδιραχτίνης, αλλά πολύ ασθενέστερη εντομοκτόνο δράση¹⁰².

Οι μεταβολίτες του νακιλίνης και 9-ακετοξυτουνακιλίνης από τον φλοιό της *Toona ciliata* (Meliaceae) (B-seco-λιμονοειδή) εμφανίσαν ισχυρή αντιτροφική δράση εναντίον του μεξικανικού σκαθαριού φασολιών¹⁰³.

Τέσσερις επιπλέον βιοδραστικές ενώσεις με ανεπαφο σκελετό αρο-ευουφόλης απομονώθηκαν από το δένδρο *Trichilia emetica* (Meliaceae) της Ανατολικής Αφρικής¹⁰⁴. Τα λιμονοειδή αυτού του δέντρου είχαν αντιτροφικές ιδιότητες, αλλά κανένα δεν ήταν τόσο

ισχυρό όσο η αζαριδαχτίνη.

Η *Harrisonia abyssinica* (Rutaceae) περιέχει τόσο το ευρέως διαδεδομένο πικρό λιμονοειδές οβακουνόνη, καθώς και το λιμονοειδές χαρρισονίνη, η οποία έχει αντιτροφική, κυτταροτοξική και αντιβακτηριακή δράση¹⁰⁵.

Αντικαρκινική δράση

Αρκετά λιμονοειδή έχουν κυτταροτοξική δράση^{106, 107}. Βιοκατευθυνόμενη κλασμάτωση οδήγησε στην απομόνωση ενός κυτταροτοξικού λιμονοειδούς της αμουραστατίνης από το δένδρο *Aphanamixis grandifolia* (Meliaceae)^{3,98}. Η αφανοστατίνη, η σενδανίνη και η 12-υδροξυαμουραστατίνη έχουν δείξει σημαντική δράση σε δοκιμές έναντι P-338 κυτταρικής σειράς λεμφοκυτταρικής λευχαιμίας. Η αζαδιραχτίνη έχει αναφερθεί ότι έχει άμεσο αποτέλεσμα στο ρυθμό και την ένταση πολλαπλασιασμού κυττάρων, λόγω της ταχείας αναστολής της σύνθεσης RNA με ταυτόχρονη αναστολή σύνθεσης πρωτεϊνών και DNA¹⁰⁸.

Limonooids: a chemical class of bitter components with important biological activity

Olga Tzakou

Department of Pharmacognosy and Chemistry
of Natural Products, University of Athens,
Panepistimiopolis, Zographou, Athens 157 71, Greece.

Summary

The present article aims a short review of naturally occurring limonoids, isolated from plants of the Rutaceae and Meliaceae families. The limonoids (more than 300 described compounds) are a stereochemically homogeneous group of tetranortriterpenes only found in the Meliaceae, Rutaceae, Cneoraceae and *Harrisonia* genus of the Simaroubaceae family. The main classes of limonoids, the biosynthesis, and their main biological activities are presented. Several limonoids possess significant antifeedant activity, with azadirachtin being the most powerful one.

Corresponding author: Tzakou Olga
E-mail: tzakou@pharm.uoa.gr

Βιβλιογραφία

1. Fatima Das H., Da Silva G.F., Gottlieb O.R. Evolution of Quassinoids and Limonoids in the Rutales. *Biochem. Syst. Ecol.* 15, 85-103, 1987.
2. Harborne J.B. (1991) Recent advances in the ecological chemistry of plant terpenoids. In: *Ecological Chemistry and Biochemistry of Plant Terpenoids*. Clarendon, Oxford, p.p. 399-426.
3. Champagne D.E., Koul O., Isman M.B., Scudder G.G.E., Towers G.H.N. Biological activity of limonoids from Rutales. *Phytochemistry* 331, 377-394, 1992.
4. Taylor D.A.H. (1983) Biogenesis, distribution, and systematic significance of limonoids in the Meliaceae, Cneoraceae, and allied taxa. In: Waterman P.G. and Grundon M.F. eds. *Chemistry and Chemical Taxonomy of the Rutales*. London, Academic Press, p.p. 353-375.
5. Taylor D.A.H. (1984) The Chemistry of Limonoids from Meliaceae. In: Herz W., Grisebach H. and Kirby G.W. eds. *Fortschritte d. Chem. Org. Naturst.* Wien, Springer-Verlag, vol. 45, p.p. 1-102.
6. Ekong D.E.U., Ibiyemi S.A., Olagbemi E.O. The Meliacins (limonoids). Biosynthesis of Nimbolide in the leaves of *Azadirachta indica*. *J. Chem. Soc. Chem. Commun.* 18, 1117-1118, 1971.
7. Bevan C.W.L., Ekong D.E.U., Taylor D.A.H. Extractives from West African members of the family Meliaceae. *Nature* 296, 1323-1325, 1965.
8. Dreyer D.L. *Citrus* bitter principles. V. Botanical distribution and chemotaxonomy in the Rutaceae. *Phytochemistry* 5, 367-378, 1966.
9. Moss G.P. Some aspects of triterpene bitter principle biosynthesis. *Planta Med.* suppl. 01, 86, 1966.
10. Taylor D.A.H. Extractives from East African timbers. Part I. *J. Chem. Soc.* 3495-3496, 1965.
11. Dreyer D.L. (1968) Limonoid bitter principles. In: Zechmeister L. ed. *Fortschritte d. Chem. Org. Naturst.* Wien, Springer-Verlag, vol. 26, p.p. 191-244.
12. Arigoni D., Barton D.H.R., Corey E.J., Jeger O., Caglioti L., Dev S., Ferrini P.G., Glazier E.R., Melera A., Pradhan S.K., Schaffner K., Sternhell S., Templeton J.F., Tobinaga S. The constitution of limonin. *Experientia* 16, 41-49, 1960.
13. Arnott S., Davie A.W., Robertson J.M., Sim G.A., Watson D.G. The structure of limonin. *Experientia* 16, 41-49, 1960.
14. Arnott S., Davie A.W., Robertson J.M., Sim G.A., Watson D.G. The structure of limonin: X-ray analysis of epilimonol iodoacetate. *J. Chem. Soc.* 4183-4200, 1961.
15. Hasegawa S., Bennett R.D., Maier V.P. Biosynthesis of limonoids in *Citrus* seedlings. *Phytochemistry* 23, 1601-1603, 1984.

16. Evans W.C. (1989) Trease and Evans' Pharmacognosy. 13rd ed., London, Baillere Tindall, p. 446.
17. Maier V.P., Dreyer D.L. *Citrus* bitter principles. IV. Occurrence of limonin in grapefruit juice. *J. Food. Sci.* 30, 874-875, 1965.
18. Kefford J.F. The chemical constituents of Citrus fruits. *Adv. Food Res.* 9, 285-372, 1960.
19. Maier V.P., Beverly G.D. Limonin monolactone, the non-bitter precursor responsible for delayed bitterness of certain *Citrus* juices. *J. Food Sci.* 33, 488-492, 1968.
20. Maier V.P. (1983) Chemistry and significance of selected *Citrus* limonoids and flavonoids. In: Waterman P.G. and Grundon M.F. eds. *Chemistry and Chemical Taxonomy of the Rutales*. London, Academic Press, p.p. 319-342.
21. Hasegawa S., Maier V.P., Herman Z., Ou P. Phytochrome bioregulation of nomilin biosynthesis in *Citrus limon* seedlings. *Phytochemistry* 25, 1323-1325, 1986.
22. Hasegawa S., Patel M.N., Snyder R.C. Reduction of limonin bitterness in navel orange juice serum with bacterial cells immobilized in acrylamide gel. *J. Agric. Food Chem.* 30, 509-511, 1982.
23. Hasegawa S., Brewster L.C., Maier V.P. Use of limonoate dehydrogenase of *Arthrobacter globiformis* for the prevention or removal of limonin bitterness in *Citrus* products. *J. Food. Sci.* 38, 1153-1155, 1973.
24. Hasegawa S., Bennett R.D., Maier V.P. Metabolism of limonin and limonoate by microorganisms: the conversion to non bitter compounds. *J. Agric. Food Chem.* 20, 435-437, 1972.
25. Heywood V.H. (1993) Flowering plants of the world. New York, Oxford University Press, p.p. 201-202.
26. Akisanya A., Bevan C.W.L., Hirst J., Halsall T.G., Taylor D.A.H. West African timbers. Part III. Petroleum extracts from the genus *Entandrophragma*. *J. Chem. Soc.* 3827-3829, 1960.
27. Lavie D., Jain M.K., Shpan-Gabrielith S.R. A locust phagorepellent from two *Melia* species. *J. Chem. Soc., Chem. Commun.* 910-911, 1967.
28. Klocke J.A., Kubo I. Citrus limonoid by-products as insect control agents. *Entomol. Exper. Appl.* 32, 299-301, 1982.
29. Lavie D., Jain M.K. Tetranortriterpenoids from *Melia azadirachta* L. *J. Chem. Soc. Chem. Commun.* 278-280, 1967.
30. Jolad S.D., Wiedhopf R.M., Cole J.R. Cytotoxic agents from *Bursera klugii* (Burseraceae) I. isolation of sapelins A and B. *J. Pharm. Sci.* 66, 889-890, 1977.
31. Halsall T.G., Troke J.A. The structure of three new meliacins isolated from *Khaya anthotheca* heartwood. *J. Chem. Soc. Perkin Trans. 1* 1758-1764, 1975.
32. Kraus W., Cramer R. 17-epi-Azadiradione und 17- β -hydroxy-azadiradione; zwei neue inhaltsstoffe aus *Azadirachta indica* A. Juss. *Tetrahedron Lett.* 19, 2395-2398, 1977.
33. Connolly J.D., Labbé C., Rycroft D.S., Taylor, D.A.H. Tetranortriterpenoids and related compounds. Part 22. New apotirucalol derivatives and tetranortriterpenoids from the wood and seeds of *Chisocheton paniculatus* (Meliaceae). *J. Chem. Soc. Perkin Trans. 1* 2959-2964, 1979.
34. Kraus W., Cramer R., Sawitzka G. Tetranortriterpenoids from the seeds of *Azadirachta indica*. *Phytochemistry* 20, 117-120, 1981.
35. Nakatani M., James J.C., Nakanishi K. Isolation and structures of trichillins, antifeedants against the southern army worm. *J. Amer. Chem. Soc.* 103, 1228-1230, 1981.
36. Arenas C., Rodriguez-Hahn L. Limonoids from *Trichilia havanensis*. *Phytochemistry* 29, 2953-2956, 1990.
37. Torto B., Hassanali A., Nyandat E., Bentley M.D. A limonoid from *Turraea floribunda*. *Phytochemistry* 42, 1235-1237, 1996.
38. Ge Y.-H., Zhang J.-X., Mu S.-Z., Chen Y., Yang F.-M., Yang L., Hao X.-J. Munronoids A-J, ten new limonoids from *Munronia unifoliolata* Oliv. *Tetrahedron* 68, 566-572, 2012.
39. Taylor D.A.H. 11 β -Acetoxykhivorin, a new limonoid, *J. Chem. Soc. Chem. Commun.* 1172, 1968.
40. Burke B.A., Chan W.R., Magnus K.E., Taylor D.R. Extractives of *Cedrela odorata* L. -III. The structure of photogedunin. *Tetrahedron* 25, 5005-5011, 1969.
41. Taylor D.A.H. Limonoids from *Khaya nyasica* Stapf. ex Bak. *J. Chem. Soc. (C)* 2439-2442, 1969.
42. Taylor D.A.H. Limonoids from *Khaya madagascariensis* Jumelle et Perrier. *J. Chem. Soc. (C)* 336-340, 1970.
43. Connolly J.D., Taylor D.A.H. Tetranortriterpenoids. Part XIV. The structure of nyasin, a limonoid from *Khaya nyasica*; a correction. *J. Chem. Soc. Perkin Trans. 1* 686-687, 1973.

44. Jimenez A., Villarreal C., Toscano R.A., Cook M., Arnason J.T., Bye R., Mata R. Limonoids from *Swietenia humilis* and *Guarea grandiflora* (Meliaceae). *Phytochemistry* 49, 1981-1988, 1998.
45. Hofer M., Greger H., Mereiter K. 6-Acetoxy-gedunin. *Acta Cryst. E* 65, o1942-o1943, 2009.
46. Hitotsuyanagi Y., Mitsui K., Fukaya H., Takeya K. Fluorinated and rearranged gedunin derivatives. *Phytochemistry Letters* 5, 486-489, 2012.
47. Connolly J.D., Okorie D.A., Taylor D.A.H. Limonoid extractives from species of *Guarea*. An unusual shielding effect on an acetyl group. *J. Chem. Soc. Perkin Trans. I* 1145, 1972.
48. Connolly J.D., Thornton I.M.S., Taylor D.A.H. Tetranortriterpenoids. Part XVI. Partial syntheses of andirobin, methyl angolensate, mexicanolide, and 1-deoxymexicanolide. *J. Chem. Soc. Perkin Trans. I* 2407-2413, 1973.
49. Taylor D.A.H. Ekebergin, a limonoid extractive from *Ekebergia capensis*. *Phytochemistry* 20, 2263-2265, 1981.
50. Purushothaman K.K., Venkatanarasimhan M., Sarada A., Connolly J.D., Rycroft D.S. Trijugins A and B, tetranortriterpenoids with a novel rearranged carbon skeleton from *Heynea trijuga* (Meliaceae). *Can. J. Chem.* 65, 35-37, 1987.
51. Chiruvella K.K., Kari V., Choudhary B., Nambiar M., Ghanta R.G., Raghavan, S.C. Methyl angolensate, a natural tetranortriterpenoid induces intrinsic apoptotic pathway in leukemic cells. *FEBS Lett.* 582, 4066-4076, 2008.
52. Jittaniyom C., Sommit D., Muangsin N., Pudhom, K. Andirobin from *X. moluccensis*. *Acta Cryst. E* 68, o2550-o2551, 2012.
53. Connolly J.D., Henderson R., McCrindle R., Overton K.H., Bhacca N.S. Tetranortriterpenoids. Part I. [Bicyclononanolides. Part I.] The constitution of swietenine. *J. Chem. Soc.* 6935-6948, 1965.
54. Dewanjee S., Maiti A., Das A.K., Mandal S.C., Dey, S.P. Swietenine: A potential oral hypoglycemic from *Swietenia macrophylla* seed. *Fitoterapia* 80, 249-251, 2009.
55. Shen, L.-R., Dong, M., Guo, D., Yin, B.-W., Zhang, M.-L., Shi, Q.-W., Huo, C.-H., Kiyota H., Suzuki N., Cong B. Xylomexicanins A and B, new $\Delta^{14,15}$ -mexicanolides from seeds of the Chinese mangrove *Xylocarpus granatum*. *Z. Naturforsch.* 64c, 37-42, 2009.
56. Shen, L.-R., Guo, D., Yu, Y.-M., Yin, B.-W., Zhao, L., Shi, Q.-W., Wang, Y.-L., Huo, C.-H. Chemical constituents of plants from the genus *Xylocarpus*. *Chem. Biodivers.* 6, 1293-1308, 2009.
57. Fang X., Di Y., Geng Z., Tan C., Guo J., Ning J., Hao X. Trichiliton A, a Novel Limonoid from *Trichilia connaroides*. *Eur. J. Org. Chem.* 2010, 1381-1387, 2010.
58. Zhang Q., Di Y.-T., He H.-P., Fang X., Chen D.-L., Yan X.-H., Zhu F., Yang T.-Q., Liu L.-L., Hao X.-J. Phragmalin- and mexicanolide-type limonoids from the leaves of *Trichilia connaroides*. *J. Nat. Prod.* 74, 152-157, 2011.
59. Inoue T., Nagai Y., Mitooka A., Ujike R., Muraoka O., Yamada T., Tanaka, R. Carapanolides A and B: unusual 9,10-seco-mexicanolides having a 2R,9S-oxygen bridge from the seeds of *Carapa guianensis*. *Tetrahedron Lett.* 53, 6685-6688, 2012.
60. Wu Y.-B., Ni Z.-Y., Huo C.-H., Su J., Dong M., Sauriol F., Shi Q.-W., Gu Y.-C., Kiyota H. Xylomexicanins C and D, new mexicanolide-type limonoids from *Xylocarpus granatum*. *Biosci. Biotech. Bioch.* 77, 736-740, 2013.
61. Ekong, D.E.U., Olagbemi, E.O. Novel meliacins (limonoids) from the wood of *Pseudocedrela kotschyii*. *Tetrahedron Lett.* 8, 3525-3527, 1967.
62. Arndt R.R., Baarschers W.H. The structure of phragmalin a meliacin with a norbornane part skeleton. *Tetrahedron* 28, 2333-2340, 1972.
63. Connolly J.D., MacLellan M., Okorie D.A., Taylor D.A.H. Limonoids from *Xylocarpus moluccensis* (Lam.) M. Roem. *J. Chem. Soc. Perkin Trans. I* 1993-1996, 1976.
64. Connolly J.D., Labbé C., Rycroft D.S. Tetranortriterpenoids and related substances. Part 20. New tetranortriterpenoids from the seeds of *Chukrasia tabularis* (Meliaceae); simple esters of phragmalin and 12 α -acetoxypfragmalin. *J. Chem. Soc. Perkin Trans. I* 285-288, 1978.
65. Taylor D.A.H. A limonoid, pseudrelone B, from *Pseudocedrela kotschyii*. *Phytochemistry* 18, 1574-1576, 1979.
66. Da Silva M.N., Arruda M.S.P., Castro K.C.F., Da Silva M.F.D.G.F., Fernandes J.B., Vieira P.C. Limonoids of the phragmalin type from *Swietenia macrophylla* and their chemotaxonomic significance. *J. Nat. Prod.* 71, 1983-1987, 2008.
67. Li Y., Luo J., Li H., Kong L.-Y. Two new phragmalin-type limonoids from *Chukrasia tabularis* var. *velutina*. *Molecules* 18, 373-380, 2013.
68. Adesogan E.K., Taylor D.A.H. Methyl ivorensate, an A-seco-limonoid from *Khaya*

- ivorensis*. *J. Chem. Soc. Chem. Commun.* 889, 1969.
69. Purushothaman K.K., Chandrasekharan S., Connolly J.D., Rycroft D.S. Tetranortriterpenoids and related substances. Part 18. Two new tetranortriterpenoids with a modified furan ring from the bark of *Soyimida febrifuga* A. Juss (Meliaceae). *J. Chem. Soc. Perkin Trans. 1* 1873-1875, 1977.
 70. Mulholland D.A., Monkhe T.V., Pegel K.H., Taylor D.A.H. Limonoids and diterpenoids from *Dysoxylum spectabile* (Meliaceae). *Biochem. Syst. Ecol.* 27, 313-315, 1999.
 71. Adesida G.A., Taylor D.A.H. Isolation of obacunol from *Lovoa trichiloides*. *Phytochemistry* 11, 2641-2642, 1972.
 72. Ahmed F.R., Ng A.S., Fallis A.G. 7 α -Acetoxidihydronomillin: isolation, spectra, and crystal structure. *Can. J. Chem.* 56, 1020-1025, 1978.
 73. Ng A.S., Fallis A.G. Comment: 7 α -Acetoxidihydronomillin and mexicanolide from *Xylocarpus granatum* (Koening). *Can. J. Chem.* 57, 3088-3089, 1979.
 74. Bennett R.D. and Hasegawa S. 7 α -Oxygenated limonoids from the Rutaceae. *Phytochemistry* 21, 2349-2354, 1982.
 75. Kipassa N.T., Iwagawa T., Okamura H., Doe M., Morimoto Y., Nakatani M. Limonoids from the stem bark of *Cedrela odorata*. *Phytochemistry* 69, 1782-1787, 2008.
 76. Ekong D.E.U. Chemistry of the meliacins (limonoids). The structure of nimbolide, a new meliacin from *Azadirachta indica*. *Chem. Commun.* 808, 1967.
 77. Henderson R., McCrindle R., Melera A., Overton K.H. Tetranortriterpenoids-IX. The constitution and stereochemistry of salannin. *Tetrahedron* 24, 1525-1528, 1968.
 78. Butterworth J.H., Morgan E.D., Percy G.R. The structure of azadirachtin; the functional groups. *J. Chem. Soc. Perkin Trans. 1* 2445-2450, 1972.
 79. Adesida G.A., Okorie D.A. Heudebolin: A new limonoid from *Trichilia heudelotii*. *Phytochemistry* 12, 3007-3008, 1973.
 80. Zanno P.R., Miura I., Nakanishi K., Elder D.L. Structure of the insect phagorepellent azadirachtin. Application of PRFT/CWD carbon-13 nuclear magnetic resonance. *J. Amer. Chem. Soc.* 97, 1975-1977, 1975.
 81. Ley S.V., Anderson J.C., Blaney W.M., Morgan E.D., Sheppard R.N., Simmonds M.S.J., Slawin A.M.Z., Smith S.C., Williams D.J., Wood A. Chemistry of insect antifeedants from *Azadirachta indica* (part 11): Characterisation and structure activity relationships of some novel rearranged azadirachtins. *Tetrahedron* 47, 9231-9246, 1991.
 82. Ley S.V., Lovell H., Williams D.J. Chemistry of insect antifeedants from *Azadirachta indica*, Part 14: Absolute configuration of azadirachtin. *J. Chem. Soc. Chem. Commun.* 1304-1306, 1992.
 83. Govindachari T.R., Sandhya G., Raj S.P.G. Azadirachtins H and I: Two new tetranortriterpenoids from *Azadirachta indica*. *J. Nat. Prod.* 55, 596-601, 1992.
 84. Kabaleeswaran V., Rajan S.S., Go G., Govindachari T.R. Crystal structure of nimbin. *J. Chem. Crystallogr.* 27, 731-733, 1997.
 85. Kraus W., Grimminger W. Toonafolin, ein neues tetranortriterpenoid-B-lacton aus *Toona ciliata* M.J. Roem. var. *australis* (Meliaceae). *Liebigs Ann. Chem.* 1838-1843, 1981.
 86. Sondengam B.L., Kamga C.S., Connolly J.D. Evodulone, a new tetranortriterpenoid from *Carapa procera*. *Tetrahedron Lett.* 20, 1357-1358, 1979.
 87. MacLachlan L.K., Taylor D.A.H. Limonoids from *Nymanina capensis*. *Phytochemistry* 21, 1701-1703, 1982.
 88. Coombes P.H., Mulholland D.A., Randrianarivelosia M. Quivisianthone, an evodulone limonoid from the Madagascan Meliaceae *Quivisia papinae*. *Phytochemistry* 65, 377-380, 2004.
 89. Gullo V.P., Miura I., Nakanishi K., Cameron A.F., Connolly J.D., Duncanson F.D., Harding A.E., McCrindle R., Taylor D.A.H. Structure of prieurianin, a complex tetranortriterpenoid; nuclear magnetic resonance analysis at non ambient temperatures and X-ray structures determination. *J. Chem. Soc. Chem. Commun.* 345-346, 1975.
 90. Jolad S.D., Hoffmann J.J., Schram K.H., Cole J.R., Tempesta, M.S., Bates R.B. Constituents of *Trichilia hispida* (Meliaceae). 3. Structures of the cytotoxic limonoids: Hispidins A, B, and C. *J. Org. Chem.* 46, 641-644, 1981.
 91. Adul G.O., Bentley M.D., Benson B.W., Huang F.-Y., Gelbaum L., Hassanali A. Two new prieurianin-class limonoids from *Turraea mombasana*. *J. Nat. Prod.* 56, 1414-1417, 1993.
 92. Rodríguez-Hahn L., Cárdenas J., Arenas C. Trichavensin, a prieurianin derivative from *Trichilia havanensis*. *Phytochemistry* 43, 457-459, 1996.

93. Luo X.-D., Wu S.-H., Yang X.-S., Teng R.-W., Ma Y.-B., Wu D.-G., Hao X.-J., Zheng Q.-T. Prieurianin-type tetranortriterpenoids from the bark of *Dysoxylum hainanense*. *Heterocycles* 53, 2225-2232, 2000.
94. Ruskin F.R. ed. (1992) *Neem, A tree for solving global problems*. Washington, National Academy Press.
95. Harborne J.B. Recent advances in Chemical Ecology. *Nat. Prod. Rep.* 7, 85-109, 1989.
96. Stone R. A biopesticidal tree begins to blossom. *Science* 255, 1070-1071, 1992.
97. Borris R.P., Schaeffer J.M. (1992) Antiparasitic agents from plants. In: Nigg H.N. and Siegler D.S. eds. *Phytochemical Resources for Medicine and Agriculture*. New York, Plenum Press, p.p 117-158.
98. Oelrichs P.B., Hill M.W., Vallely P.J., MacLeod J.K., Molinski T.F. Toxic tetranortriterpenes of the fruit of *Melia azedarach*. *Phytochemistry* 22, 531-534, 1983.
99. Feng R.Y., Chen W.K., Isman M.B. Synergism of malathion and inhibition of midgut esterase activities by an extract from *Melia toosendan* (Meliaceae). *Pestic. Biochem. Phys.* 53, 34-41, 1995.
100. Mikolajczak K.L., Reed D.K. Extractives of seeds of the Meliaceae: Effects on *Spodoptera frugiperda*, *Acalymna vittatum* and *Artemia salina*. *J. Chem. Ecol.* 13, 99-111, 1987.
101. Mikolajczak K.L., Zilkowski B.W., Bartelt R.J. Effect of meliaceous seed extracts on growth and survival of *Spodoptera frugiperda* (J.E. Smith). *J. Chem. Ecol.* 15, 121-128, 1989.
102. Mikolajczak K.L., Weisleder D., Parkanyi L., Clardy J. A limonoid antifeedant from seed of *Carapa procera*. *J. Nat. Prod.* 51, 606-610, 1988.
103. Kraus W., Grimminger W., Sawitzki G. Toonacilin and 6-Acetoxytoonacilin, two novel B-*seco*-tetranortriterpenoids with antifeeding activity. *Angew. Chem. Int. Ed.* 17, 452-453, 1978.
104. Nakatani M., James J.C., Nakaniski K. Isolation and structures of trichilins, antifeedants against the southern army worm. *J. Am. Chem. Soc.* 103, 1228-1230, 1981.
105. Hassanali A., Bentley M.D., Slawin A.M.Z., Williams D.J., Shephard R.N., Chapya A.W. Pedonin, a spiro tetranortriterpenoid insect antifeedant from *Harrisonia abyssinica*. *Phytochemistry* 26, 573-575, 1987.
106. Takeya K., Qiao Z.S., Hirobe C., Itokawa H. Cytotoxic azadirachtin type limonoids from *Melia azedarach*. *Phytochemistry* 42, 709-712, 1996.
107. Kumar V.S., Navaratnam V. *Neem (Azadirachta indica): Prehistory to contemporary medicinal uses to humankind*. *Asian Pac. J. Trop. Biomed.* 3, 505-514, 2013.
108. Puri H.S. (1999) *Neem, The Divine Tree, Azadirachta indica*. The Netherlands, Harwood Academic Publishers, p.p. 87-110.

From the Traditional Medicine to the Modern Era of Synthetic Pharmaceuticals

Natural Products and Reverse Pharmacology Approaches Have Expendited New Drug Discovery

Thomais Vlachogianni, Spyridon Loridas, Konstantinos Fiotakis, Athanasios Valavanidis*

Department of Chemistry, University of Athens, University Campus Zografou, 15784, Athens, Greece

Summary

Traditional medicine is “health practices that were developed for centuries, incorporating knowledge, skills and practices based on beliefs and experiences of indigenous people from different cultures”. Indigenous medicine used plant, animal and mineral-based medicines, spiritual therapies, manual techniques and exercises to treat, diagnose and prevent illnesses. Despite the progress achieved in the last decades with modern medical and pharmacological products and new medicinal technology, in some Asian and African countries, up to 80% of the population relies on traditional for their primary health care needs. Although not always successful or effective, traditional medicine used to maintain good health, as well as to prevent, diagnose, improve or treat physical and mental illnesses with simple methods and a vast array of natural products extracted from plants, animals and microbes. Natural products that were used with success for various ailments for long time have provided considerable value to the modern pharmaceutical industry over the past half century, particularly in the therapeutic areas of infectious diseases and oncology. In this review we provide a comprehensive narrative of the progress achieved in the last decades by traditional medicine (Chinese, Ayurveda, herbal etc) and its adoption by WHO and the World Health Assembly. Also, how the natural products used in the past provided a useful platform to the modern pharmaceutical industry for the discovery of new drugs for a great variety of

diseases. The misuse of certain herbal remedies can cause harm. Safety concerns for traditional medicine were examined by better designed research, clinical trials and pharmacovigilance systems. Reverse pharmacology approaches inspired by traditional medicine offered a smart strategy for new drug candidates and facilitated for the development of rational synergistic botanical formulations. There are many international databases for natural products and their influence in discovering new materials for medical use. Also, the review provides from historical point of view the success story of some natural products as novel pharmaceutical medicines.

Introduction

Plants, animals, microbes and marine organisms from the natural environment have been a source of medicinal products for thousand of years. Many useful therapeutic drugs were developed in the last decades especially from plant sources. The discovery of novel natural chemical compounds in pure form have made a big impact on the modern pharmaceutical industry.¹

Natural products have provided considerable value to the pharmaceutical industry over the past half century, particularly in the therapeutic areas of infectious diseases and oncology. In the past decades there were some famous examples, such as the cancer drugs *Taxol* (paclitaxel) and its derivative *Taxotere* (docetaxel), the antibiotics *Erythromycin* and its derivatives *Biaxin* (clarithromycin) and *Zithromax* (azithromycin) and the antimalaria drug *Artemisinin*.²

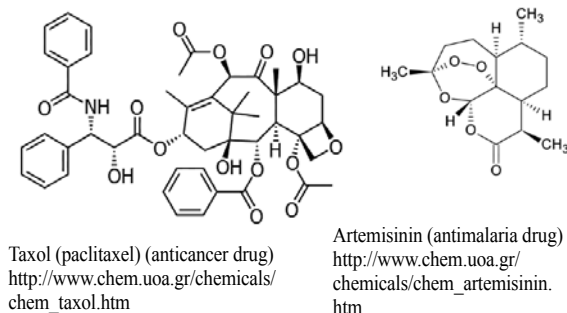


Figure 1. Well known examples of natural chemical products as successful therapeutic drugs

Throughout of centuries traditional medicine systems in general have had to meet the needs of the local communities. The most advanced traditional medical systems came from the areas of China and India. These highly populous areas have developed very sophisticated systems such as acupuncture and ayurvedic medicine, but also a great variety of natural herbal drug products from every type of diseases and common ailments. Indigenous traditional medicine is generally transmitted orally through a community, family and individuals until transferred to a new generation of healers. Within a given culture, elements of indigenous medicine knowledge may be diffusely known by many, or may be gathered and applied by those in a specific role of healer such as a shaman (a practitioner of shamanism, a variety of spiritual and healing practices), experienced medical practitioner and a midwife.³⁻⁵

Over the years, the World Health Assembly of World Health Organization (WHO) has adopted a number of resolutions drawing attention to the fact that most of the populations in various developing countries have access only to traditional medical practices. Traditional medicine for primary health care is a potentially important resource for the delivery of health care and that medicinal plants are

of great importance to the health of individuals and their communities.⁶⁻⁸

Traditional medicine: natural does not mean necessarily “harmless” and “effective”

Natural chemical products that are extracted from plants and animals are essential sources of new pharmaceuticals, because of the immense variety of functionally relevant secondary metabolites of microbial and plant species. Furthermore, the development of powerful analytical tools based upon genomics, proteomics, metabolomics, bioinformatics and other 21st century technologies are greatly expediting identification and characterization of these natural products.^{9,10}

For many centuries traditional medicine systems have had to meet the medical and pharmaceutical needs of the local communities and prevent diseases and deaths. China and India which were always very populous areas of the Earth's have developed very sophisticated systems with numerous natural extracts, plant and animals powders and medical techniques, such as acupuncture and Ayurvedic medicine (system of traditional medicine native to the Indian subcontinent and a form of alternative medicine). In practice, the term “*traditional medicine*” refers to the following components: acupuncture, traditional birth attendants, mental healers and herbal medicine.^{10,11}

The World Health Assembly (WHO, the forum of the World Health Organization, which is governed by its 194 member states and is the world's highest health policy setting body, composed of health ministers from member states, meeting every May in Geneva). in the last decades WHA has adopted a number of resolutions drawing attention on traditional medicine for primary health care. Despite the progress of the last decades of conventional preventive and health



Figure 2. Traditional herb products in Africa, Latin America, China and India have been established for centuries as effective medical drugs.

practices (modern drugs, vaccination, surgery, and advanced techniques of medical and pharmaceutical interventions) the traditional medical work force represented by numerous practitioners in Asia, Africa and Latin America is a potentially important resource for the delivery of health care. At the same time medicinal plants are of great importance to the health of individuals and their communities. [http://www.who.int/medicines/areas/traditional/trm_assembly_doc/en/index.html] (accessed Nov. 2013).

WHO, through its Traditional Medicine Programme, supported over the years its member states in their efforts to formulate national policies on traditional medicine, to study the potential usefulness of traditional medicine including evaluation of practices and examination of the safety and efficacy of remedies (especially herbal medical plants). Also, WHO helped to upgrade the knowledge of traditional and modern health practitioners, as well as to educate and inform the general public about positive aspects but also negative effects from traditional health practices [<http://www.who.int/medicines/areas/traditional/en/index.html>] (accessed November 2013).

At the same period a genuine interest in various traditional practices developed among practitioners of modern medicine. The reasons for the inclusion of traditional healers in primary health care are manifold. The healers know the sociocultural background of the people; they are highly respected and experienced in their work. Also, there are economic considerations; the distances to be covered by doctors to visit patients in some underdeveloped countries; the strength of traditional beliefs; the shortage of health professionals, particularly in rural areas, to name just a few. But at the same time it must be emphasised that “natural” does not mean it is safe and effective to treat all ailments. In fact, many studies showed numerous negative effects.¹²

A large proportion of the population in a number of developing countries still relies on traditional practitioners, including traditional birth attendants, herbalists and bone-setters and on local medicinal plants to satisfy their primary health care needs. WHO estimates that traditional birth attendants assist in up to 95% of all rural births and 70% of urban births in developing countries (<http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs134/en/>). Despite the progress achieved in the last decades in some Asian and African countries, 80% of the population depend on traditional medicine for primary health care. Herbal medicines are the most lucrative form of traditional medicine, generating billions of dollars in revenue in developed and underdeveloped countries

Pharmacovigilence Traditional herbal medicine and medical practices

As the use of herbal medicines has increased in the last decades, so too scientists have prepared reports of suspected toxicity and adverse health effects from herbs and medicals dusts that are used in traditional medicine. Such unwanted side reactions and toxicological problems can be due to wrong extractions techniques, accidental contaminations or adulteration, but also from other aspects of natural-derived medical substances:

- a) side effects and toxicity problems (poor hygiene, infectious agents),
- b) negative reactions occurring as a result of overdose, overduration, tolerance and dependence - addiction,
- c) hypersensitivity, allergic and idiosyncratic reactions of patients,
- d) mid-term and long-term toxic effects including liver, renal, cardiac and neurotoxicity, as well as carcinogenicity (detectable by *in vitro* and *in vivo* toxicological studies or by pharmacovigilance).¹³⁻¹⁵

Although herbal products are generally considered safe due to their age-old usage, significant side effects have been reported for many herbal products, including herbal medicine. Accidental contamination and intentional adulteration are considered as primary reasons for the side effects. Assurance of safety by identification of contaminants and assessment of toxicity and assessment of claimed efficacy has been outlined in a recent review.¹⁶

Many herbal products on the market have not been thoroughly tested for their pharmacological results and toxicology. In order to improve efficiency and safety many countries introduced schemes of pharmacovigilance (doctors nurses and health practitioners collecting data on side effects and toxicity from patients and referring the results to a centralised system) that have paramount importance in detecting unwanted reactions by natural products. In addition, there is an ongoing problem with unexpected toxicity of herbal products due to quality issues, including use of poor quality herbal material, incorrect or misidentified herbs, incorrect processing methods, supply of adulterated or contaminated herbs or products. The safety of herbal medicines has become an issue for the regulatory authorities, as serious effects have been reported, including hepatotoxicity, renal failure and allergic reactions. These adverse health issues can be addressed to some degree by improved regulation requiring Good Manufacturing Practice (GMP) standards for manufacturing and extended pharmacovigilance.¹⁷⁻¹⁹

The WHO, recognising the growing importance of the use of herbal medicines worldwide developed guidelines for the monitoring of herbal safety within the existing pharmacovigilance framework. Many countries have developed strategies for pharmacovigilance and systematic follow up of side effects and use of traditional herbs and synthetic drugs^{20,21}

Regulations and medical watch schemes for traditional medicines and herbs

In Europe, herbal medicines are registered under two directives, either 'well-established use' or 'traditional herbal medicinal products' both of which have significant requirements for quality GMP and safety (amongst others). Directive 2001/83/EC (amended by 2002/0008) regards traditional herbal medicinal products and Directive 24/EC/2004. Food supplements do not have the same legal requirements for quality control and their regulations are different.²²

Toxicologists and health professionals suggest that there is a number of initiatives to address with herbal identification and to promote a set of quality standards. In addition to individual country pharmacopoeias (e.g. British Pharmacopoeia) the European Pharmacopoeia has an extensive programme of herbal monographs under development including herbs from China and the Indian sub-continent. In addition the European Medicines Agency (London) is also developing a more comprehensive list of herbal monographs. Similarly, herbal monographs have been published by the American Herbal Pharmacopoeia. The Herbal Medicines Compendium, published by the U.S. Pharmacopeial Convention (USP), is a freely available, online resource that provides standards for herbal ingredients used in herbal medicines [<http://www.usp.org/around-world/herbal-medicines-compendium>]. Also, it publishes the *American Herbal Pharmacopoeia and Therapeutic Compendium* [includes plants used in Ayurvedic, Siddha (Tamil) and Chinese medicine]. (accessed November 2013 in <http://www.gobookee.net/american-herbal-pharmacopoeia/>).

In the United States where herbal medicines/natural products are supplied as dietary supplements, health professionals and consumers can report suspected adverse reactions to the *FDA MedWatch Scheme* (<http://www.fda.gov/Safety/MedWatch/default.htm>). In the UK the spontaneous reporting system is referred to as the 'yellow card' scheme; other countries such as Australia have blue cards. In the UK the yellow card was modified to allow for the inclusion of herbals in 2000. However there are still problems regarding accurate ingredient lists,

botanical naming of the medicinal herbs, processing and product quality.²³

Also, in the UK the *Medicines and Healthcare Products Regulatory Agency* receives about 20,000 yellow card reports per annum but this includes only about 100 herbal reports (www.mhra.gov.uk/safetyinformation). Despite efforts to improve reporting by extending to nurses, pharmacists and consumers there has not been any significant increase in herbal reports. Countries including Sweden and Italy have carried out studies on herbal ADRs (adverse drug reaction).²⁴⁻²⁶

Chinese medical herbs are the most numerous. There are roughly 13,000 traditional medicinal products used in China and over 100,000 medicinal recipes recorded. Plant elements and extracts are by far the most common. But despite their long-term use and effectiveness there are many toxicological problems for some of them and poisonous adverse effects.²⁷⁻³⁰

In the United States, in response to increased public interest Congress established the National Institutes of Health (NIH) Office of Alternative Medicine (OAM) in 1992 and the NIH Office of Dietary Supplements in 1994 to conduct and coordinate research in herbs and supplements. In 1998, the upgraded National Center for Complementary and Alternative Medicine has prioritized evaluating mechanisms, efficacy, and safety of botanical medicines through basic science studies, clinical research, and the establishment of dedicated botanical research centers.³¹

The EU Directive on Traditional Herbal Medicinal Products (2004/24/EC, amending previous D. 2001/83/EC) provided a simplified regulatory approval process for traditional herbal medicines. Previously, there was no formal EU wide authorisation procedure, so each EU member state regulated these types of products at the national level. Under this regulation, all herbal medicinal products are required to obtain an authorisation to market within the EU. A *Committee for Herbal Medicinal Products (HMPC)* has been established at the European Medicines Agency (London) to establish community monographs for traditional herbal medicinal products, and, with the objective of further facilitating registration and harmonisation in the field of traditional herbal medicinal products, prepare a draft list of herbal substances (The list was established by Commission Decision 2008/911/EC of 21 November 2008) which have been in medicinal use for a sufficiently long time, and hence are considered not to be harmful under normal conditions of use and also demonstrate safety.³²

Many countries in the last decade have their own legislations on traditional medicinal products. Because all medical practitioners realised that “natural” does not necessarily mean “harmless” and “effective” to treat diseases. Counterfeit, poor quality or adulterated herbal products in international markets are serious problems and every year many people are poisoned. Many traditional medicine products have serious side-effects and low level of hygiene. More than 100 countries have now regulations for herbal medicines. In the scientific literature there are many examples of natural herbs with allergic reactions, toxic reactions, mutagenic effects, drug interactions and side effects.^{33,34}

Classes of natural substances used in traditional medicine

Natural chemical products from the microbial and marine world, but mainly from plant and animal kingdoms, have been for centuries a rich source of useful and effective medicinal compounds for centuries in many geographical areas and cultures of the world. Major classes of phytochemicals as drugs include alkaloids, antioxidant polyphenols, terpenoids, phytosterols, penicillins, tetracyclines, bryostatins, dolostatsins, cephalostatsins, venoms and toxins from snakes, etc.^{35,36}

The majority of traditional medicinal products are plant herbs as a result of evolutionary forces of life on Earth that have shaped the plant's selection of phytochemicals. It is notable that plants live within their own microenvironment, replete with a comparatively warm and humid microclimate rich in chemical emissions. Their interactions with animals are most often with the rich palette of invertebrates (arthropod, insect). Plants provide a large bank of rich, complex and highly varied structures which are unlikely to be synthesized in chemical laboratories. Furthermore, evolution has already carried out a screening process itself whereby plants are more likely to survive if they contain potent compounds to deter their enemies. Even today, the number of plants that have been extensively studied is relatively very few out of the vast majority of phytochemicals.^{37,38}

Plant phytochemicals as traditional medicinal drugs

The most important classes of phytochemicals that are used as natural herbal drugs in traditional medicine are aliphatics, alkaloids, simple phenolics, lignans, quinones, polyphenols (flavonoids and tannins), and mono-, sesqui-, di-, and tri-terpenes (including sterols).

Alkaloids are a structurally diverse group of over 12,000 cyclic nitrogen-containing compounds that are found in over 20% of plant species.

Alkaloids were used for medicinal purposes some 5000 years ago and this chemical group has contributed the majority of the poisons, neurotoxins, and traditional psychedelics (e.g. atropine from the plant *Atropa Belladonna*) and social drugs [e.g. nicotine, caffeine, methamphetamine (ephedrine), cocaine, and opiates] consumed by humans.

This group also provides the cholinesterase inhibiting treatments, such as Physostigmine and Rivastigmine. Also, Quinidine as antiarrhythmic, Quinine as antimalarial and antipyretic, Reserpine as antihypertensive, Vinblastine (antimicrotubule drug used to treat certain kinds of cancer, including Hodgkin's lymphoma, non-small cell lung cancer, breast cancer, head, neck and Testicular cancer) and Vincristine as antitumour drug, Vincamine as vasodilating and antihypertensive and Yohimbine as stimulant aphrodisiac.^{39,40}

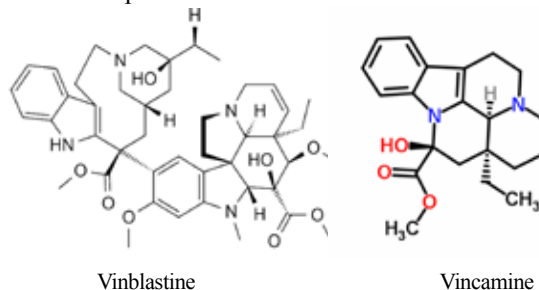
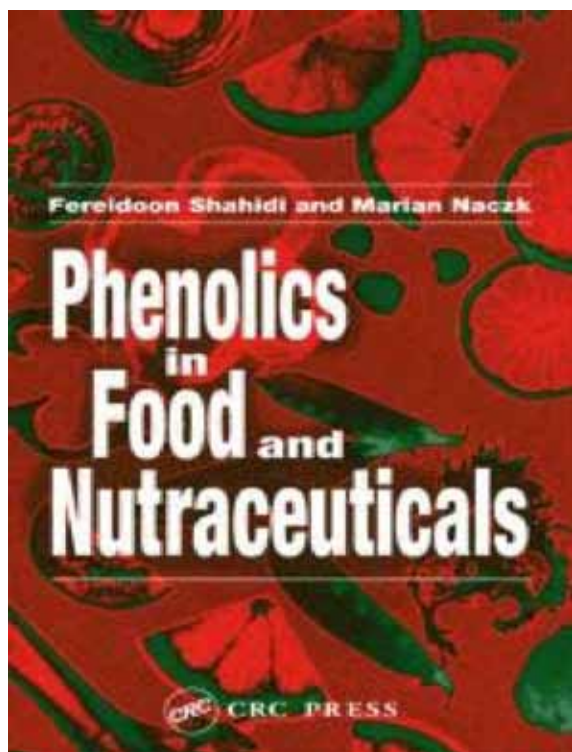


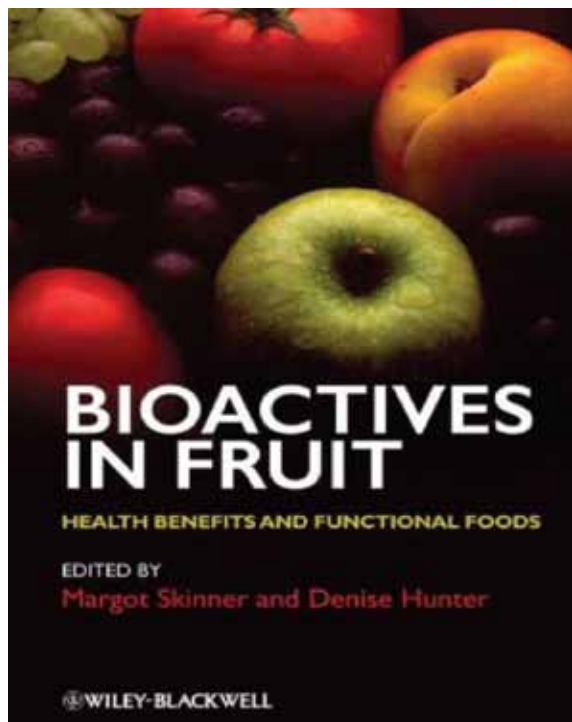
Figure 3. Alkaloids that proved to be effective drugs

Terpenes (terpenoids, isoprenoids) are a diverse group of more than 30,000 lipid-soluble compounds. As a broad group, terpenes exhibit a range of toxicity from deadly to entirely edible and this is in keeping with their broad range of ecological roles, which include antimicrobial properties. Terpenoids play a role in traditional herbal remedies and are under investigation for antibacterial, antitumour and other pharmaceutical applications. Terpenoids contribute to the scent of eucalyptus, the flavors of cinnamon and cloves, the yellow color in sunflowers, and the red color in tomatoes. Well-known terpenoids include citral, menthol, camphor, salvinorin.^{41,42}

Phenolics are ubiquitously found across the plant kingdom, with ~10,000 structures identified to date. Phenolics range from simple low-molecular weight compounds, such as the simple phenylpropanoids, coumarins, and benzoic acid derivatives, to more complex structures such as flavanoids, stilbenes, and tannins. Flavonoids represent the largest, most



Fereidoon Shahidi F, Marian Naczk M. CRC Press, 2003.



Skinner M, Hunter D. Bioactives in Fruit. Health Benefits and Functional Foods. Wiley-Blackwell, 2013.

Figure 5. Selected books on natural phenolic substances and nutraceuticals.

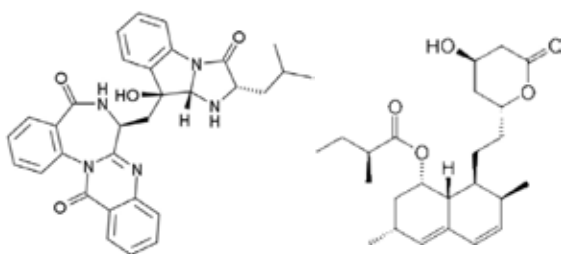
diverse group, encompassing some 6,000 compounds, subdivided according to modifications of this basic skeleton into chalcones, flavones, flavonols, flavanones, isoflavones, flavan-3-ols, lignans and anthocyanins. Phenolics represent an important component of a normal human diet. Epidemiological studies have suggested associations between consumption of phenolic-rich foods or beverages and various diseases, such as stroke, cardiovascular disease, and cancer and neurologic disorders such as dementia.^{43,44}

In the last decade there are new diet products, Nutraceuticals, that range from isolated nutrients (polyphenols, flavonoids, antioxidants, special salts, vitamins, amino acids), dietary supplements and herbal products, specific diets and processed foods such as cereals, soups, and beverages. The term Nutraceuticals is the combination of words “nutrition” and “pharmaceuticals. In the US “nutraceutical” products are regulated as drugs, dietary supplements, food ingredients, or food.

The microbial world and natural substances as drugs

Microorganisms such as bacteria and fungi have been invaluable for discovering drugs and lead pharmaceutical compounds. Microorganisms produce a large variety of antimicrobial agents which have evolved to give their hosts an advantage over their competitors in the microbiological world. The screening of microorganisms for new drugs became highly popular after the discovery of Penicillin. A large number of scientists and microbiologists collected and analysed soil and water samples from all over the world in order to study new bacterial or fungal strains, leading to an impressive arsenal of antibacterial agents such as the cephalosporins, tetracyclines, aminoglycosides, rifamycins, and chloramphenicol.⁴⁵⁻⁴⁷

Although most of the drugs derived from microorganisms are used in antibacterial therapy, some microbial metabolites have provided lead compounds in other fields of medicine. For example, Asperlicin- (isolated from *Aspergillus alliaceus*) is a novel antagonist of a peptide hormone called cholecystokinin (CCK) which is involved in the control of appetite. Analogues of Asperlicin may therefore have potential in treating anxiety. Other examples include the fungal metabolite Lovastatin, which was the lead compound for a series of drugs that lower cholesterol levels, and another fungal metabolite called Ciclosporin which is used to suppress the immune response after transplantation operations.⁴⁸⁻⁵⁰



Asperlicin-selective antagonist for the cholecystokinin receptor CCKA,

Lovastatin, is a statin

Figure 6. Drugs Asperlicin and Lovastatin extracted and isolated from microorganisms

Marine-derived natural compounds as drugs

In the last decades, there has been a great interest in finding lead compounds from marine organisms. Coral, sponges, fish, and marine microorganisms have a wealth of biologically potent chemicals with interesting inflammatory, antiviral, and anticancer activity. For example, curacin A is obtained from a marine cyanobacterium and shows potent antitumor activity. Other antitumor agents derived from marine sources include eleutherobin, discodermolide, bryostatins, dolostatins, and cephalostatins. The global research of marine-derived pharmaceuticals remained very active in the last decade. It is estimated that in the period 1998-2008 more than 600 marine natural products were tested and proved to have promising antitumor activities, and 666 compounds with interesting antibacterial, anti-inflammatory, antifungal, antiviral, anticoagulant and other pharmaceutical activities. Until the end of 2011 21,855 marine-derived compounds were discovered with novel biological modes of action that can be developed into promising lead into market drugs.⁵¹⁻⁵⁴

In the last count of approval, eight marine drugs have been approved by the FDA or EMEA (European Medicines Agency) and are registered Cephalosporin C, Cytarabine (Ara-C), Vidrabine (Ara-A), Ziconotide (Prialt), omega-3-acid ethyl esters (Lovaza), ET-743 (Yondelis), E7389 (Halaven), Brentuximab vendotin (SGN-35). Also, a number of novel marine-derived pharmaceuticals are in the pipeline for clinical trials:⁵⁵

Phase III clinical trials: Soblidotin (TZT 1027), Tasidotin, Synthadotin (ILX-651), Bryostatin 1, Hemiasterilin (E7974), and Pseudopterosin.

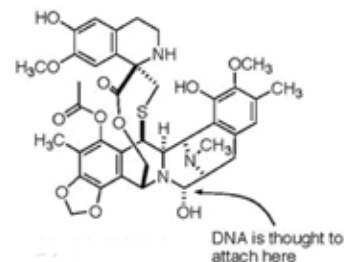
Phase II clinical trials: (DMXBA(GTS-21), Plinabulin (NPI 2358), PM00104, Elisidepsin, PM01183 and CDX-011)

Phase I clinical trials: Marizomib (Salinosporamide A; NPI-0052), PM060184, SGN-75 and ASG-5ME.

But every discovery of these natural compounds and their evaluation is not the end of the story. Another important step is to produce them in pure and adequate quantities in an economic way. The organic synthetic pathway of drugs is a highly difficult scientific problem and has to be worked out involving many complicated synthetic steps. The retrosynthetic methodology (invented by Elias James Corey, Harvard University, Nobel Prize of Chemistry in 1990) proved to be the most successful approach in synthetic design planned backwards in steps from the product, using standard chemistry rules. Computer programs have been written for designing a synthesis based on sequences of generic “half-reactions”. In the case of *Yondelis* (ET-743) Corey deciphered nature’s instructions on how to make this powerful medicinal molecule discovered in a sea squirt (*Ecteinascidia turbinate*). In order for scientists to harvest only 1g of the substance they needed more than a ton of Caribbean sea squirts. By synthesizing drugs in a chemical laboratory, scientists now can produce pure chemicals in an economic way. In 2007, the EMEA gave authorisation for the marketing of Trabectedin, under the trade name Yondelis, for the treatment of patients with advanced soft tissue sarcoma.^{56,57}



Ecteinascidia turbinate



Yondelis, (Trabectedin), anticancer drug

Figure 7. Yondelis, marine-derived anticancer drug. Yondelis is also in phase II trials for prostate, breast and paediatric cancers

Bioactive natural products from animal, insects, toxins etc

Natural products derived from various animals were a source of new lead pharmaceutical compounds. A series of antibiotic peptides were extracted from the skin of the African clawed frog and a potent analgesic compound called Epibatidine was obtained from the skin extracts of the Ecuadorian poison frog. Also, venoms and toxins from animals, snakes, spiders, scorpions, insects, and microorganisms proved to be extremely good drugs because they often have very specific interactions with a macromolecular target in the body of a patient. As a result, they have proved important tools in studying receptors, ion channels and enzymes.

There are examples of venoms and toxins, such as Teprotide, a peptide isolated from the venom of the Brazilian viper, was the lead compound for the development of the antihypertensive agents cilazapril and captopril. The neurotoxins from *Clostridium botulinum* are responsible for serious food poisoning (botulism), but they have a clinical use as well. They can be injected into specific muscles to prevent muscle spasm. These toxins prevent cholinergic transmission and could well prove a lead for the development of novel anticholinergic drugs.⁵⁸⁻⁶⁰

The success of drugs derived from natural sources (plants, animals, microorganisms) added a new driving force to screening for novel, biologically active metabolites and promising new drugs.^{61,62} Since the 1990s, new technologies such as *combinatorial chemistry, high-throughput screening, bioinformatics, proteomics and genomics* have emerged, and are being integrated widely in the field of pharmaceutical discovery research. These technologies have enormous potential to make use of the chemical diversity of natural products. Other techniques have only been developed in the last years and continue to evolve rapidly. These include molecular diversity, compound library design, protein 3D-structures, NMR- based screening, 3D QSAR in modern drug design.⁶³

International databases of natural products as drugs

In the past decades various natural product databases were developed containing large numbers of substances, chemical structures, spectra and bioactivity properties.

One of the most advanced is *NAPRALERT*, an acronym for NATural PRoducts ALERT (University of Illinois at Chicago (A World Health Organization Collaborating Centre for Traditional Medicine, <https://www.uic.edu/pharmacy/depts/PCRPS/NAPRALERT.htm>). It is the largest natural substances database of world literature describing the ethnomedical or traditional uses, chemistry, and pharmacology of plant, microbial and animal (primarily marine) extracts. In addition, NAPRALERT contains considerable data on the chemistry and pharmacology (including human studies) of secondary metabolites of known structure, derived from natural sources. NAPRALERT currently contains information from over 150,000 scientific research articles dating back from 1650 A.D. to the present. These articles contain information on more than 152,000 pure chemical species, more than 52,000 plant, marine, microbial or animal species

and more than 1.5 million records which associate these previous record types with biological activity. The NAPRALERT database increases at a rate of approximately 600 articles per month covering the natural products literature in over 700 journals. Retrievable data include: standard three part profiles which contain all ethnomedical, pharmacological as well as phytochemical information on the plant, marine, animal or microbe species in question. The database was specifically designed to be of value in the drug discovery and development processes.

Scientists in Brasil have established the NuBBEDB Web-database (Núcleo de Bioensaios, Biossíntese e Ecofisiologia de Produtos Naturais) which incorporates several classes of secondary metabolites and derivatives from the biodiversity of Brazil. This natural product database incorporates botanical, chemical, pharmacological, and toxicological compound information. The NuBBEDB provides specialized information to the worldwide scientific community and can serve as a useful tool for studies on the multidisciplinary interfaces related to chemistry and biology, including virtual screening, dereplication, metabolomics, and medicinal chemistry. (accessed at <http://nubbe.iq.unesp.br/nubbedb.html>).⁶⁴

Scientists from the University of California San Diego, Scripps Institution of Oceanography, have collected a large repository of marine organisms and microorganisms from all places of the globe. The database collected all the published available natural products data as well as data deposited by the independent researches from health and pharmaceutical sciences. The portal provides a digital library (<http://naturalprod.ucsd.edu/>).

The Publisher Chapman & Hall/CRC publishes from 1930 the Chemical Database (chemical substances, physical and biological properties, literature references; etc). *The Dictionary of Natural Products Online* is a subset of this database and includes all compounds contained in the *Dictionary of Natural Products* (Main Work and Supplements). *Super Natural II*, is another digital database of natural products which contains 352,811 natural compounds including information on the 2d structures and physicochemical properties. The chemical diversity of these molecules is tremendous and offers inspiration for innovations in the fields of medicine, nutrition, agrochemical research and life sciences (http://bioinf-applied.charite.de/supernatural_new/index.php).

Natural Medicines Comprehensive Database, 3d ed. Compiled and edited by Jeff M. Jellin, Philip Gregory, Forrest Batz, Kathy Hitchen, Stephen

Burson, Kay Shaver, and Kimberly Palacios. Stockton, CA: Therapeutic Research, 2000. 1,530 pages. \$92.00. ISBN 0-9676136-4-7. Web version, \$92.0. The *Natural Medicines Comprehensive Database*, is one of the most comprehensive and reliable natural medicine resources available, is by Therapeutic Research Faculty, an impressive team of experts. Natural medicines in this context refer to all herbal and non-herbal supplements.

Safety concerns for traditional medicine (Chinese), herbal drugs and acupuncture

The Traditional Chinese Medicine (TCM) is the most extensive and well known all over the world involving a broad range of medical practices and large numbers of herbal medicines. TCM was based on a medical tradition of over 5,000 years that has been developed in China and other Asian countries. It includes various forms of herbal drugs extracted or prepared from plants, acupuncture, massage Tuina, exercise (qigong), and dietary therapies for various diseases.

In the last decade medical professionals questioned the safety and effectiveness of TCM practises and researchers provided numerous studies of clinical trials. The fact is that TCM medicines have been safely and effectively used for a long time, some even for a few thousand years and TCM hospitals in many countries are serving health care needs of the millions of people every day. Some clinical trials were contacted but questions remained. Although the FDA in the USA has officially recognized traditional Chinese herbal remedies, the TCM products are only allowed only as dietary supplements, whereas clinical use of TCM remedies in other countries are not recognized. During the decades, Chinese and other Asian TCM research institutions have used modern technology to verify the empirical effects shown with TCM, including lab trials with mice as well as clinical trials with humans.^{65,66}

The potential toxicity of many Chinese traditional medicines is well recognised. Adverse reactions have been reported, many of these are due misuse or abuse of Chinese medicine. The main problem remains products adulterated with pharmaceuticals for weight loss or erectile dysfunction. Also, some herbs have narrow therapeutic ranges and excess medication produces toxic effects. Toxic effects from chronic or cumulative dosing are difficult to detect in the traditional settings. Despite safety concerns, Chinese medicine appears to be relatively safe with comparatively few reports of adverse reactions compared with overall drug reports. The

wealth of information in the Chinese literature needs to be more widely available. As TCM is widely used by patients, improved pharmacovigilance and pharmacoepidemiology can contribute valuable safety information, relevant to clinical use.^{67,68}

Acupuncture's use for certain conditions has been recognized by the U.S. National Institutes of Health, the National Health Service of the United Kingdom, the WHO and the National Center for Complementary and Alternative Medicine (USA). However, scientists remain sceptical and have criticized various health governing body's endorsements of acupuncture as being unduly credulous and not including objections to or criticisms of the claims of acupuncture's effectiveness. There is general agreement that acupuncture is safe when administered by well-trained practitioners using sterile needles. Major adverse events are exceedingly rare and are usually associated with poorly trained unlicensed acupuncturists. WHO has compiled a list of disorders for which acupuncture may have an effect: adverse reactions to chemotherapy and radiation, induction of labour, sciatica, dysmenorrhea, depression, hypertension, rheumatoid arthritis, and low back pain.⁶⁹⁻⁷¹

Traditional prescriptions of Chinese herbal medicines (assorted dried plants and extracts, minerals and animal parts) are typically one batch that is prepared as a mixture of about 9 to 18 substances. In Chinese herbal medicines there are roughly 13,000 pharmaceutical constituents and over 100,000 medicinal recipes. Some animal parts in TCM can be considered strange, such as cows' gallstones, and some are parts of endangered species, such as tiger bones, rhinoceros' horn, turtle plastron (plastron is the nearly flat part of the shell structure of a turtle) and seahorses.⁷²⁻⁷⁵

Safety concerns for traditional Indian medical practices

India is now a country of 1.2 billion people that contains extremes of wealth and poverty, but India also has a highly developed over the years traditional Indian medicine, state-of-the-art hospitals and areas devoid of any formal healthcare services. The traditional approaches to healthcare in India cover health systems such as Ayurveda, Yoga, Siddha, Amchi, and folk medicine.⁷⁶⁻⁷⁹

The most famous and widespread health system is the *Ayurveda*, which is not only a system of medicine, but also a way of living. It is used to both prevent and cure diseases. The most commonly reported reasons for using traditional and complementary/alternative medicine such as Ayurveda are that it is

more affordable, more closely corresponds to the patient's ideology, and is less paternalistic. This type of traditional and complementary/alternative medicine has demonstrated efficacy in areas such as mental health, disease prevention, treatment of non-communicable diseases, and improvement of the quality of life for persons living with chronic diseases as well as for the ageing population. Although further research, clinical trials, and evaluations are needed, traditional and complementary/alternative medicine has shown great potential to meet a broad spectrum of health care needs.^{80,81}

Safety concerns have been raised about *Ayurveda*; for instance, two U.S. studies found that about 20% of Ayurvedic medicines (with US and Indian-manufactured patents and sold via internet) contained toxic levels of heavy metals such as Pb, Hg and As. Other concerns include the use of herbs containing toxic compounds and the lack of quality control in Ayurvedic facilities.^{82,83}

For many decades the Government of India wanted to establish the credibility and efficiency of traditional medical practices and protect them from malpractices and falsifications. So, in 2001 with cooperation of the Council for Scientific and Industrial Research (CSIR) set up a Traditional Knowledge Digital Library (TKDL) to establish patents on traditional knowledge and protect from biopiracy. Also, the library codified traditional knowledge on Indian systems of medicines such as Ayurveda, Unani, Siddha and Yoga. The library contains nearly 805,000 Ayurvedic formulations, 98,700 Unani formulations, and 9,970 Siddha formulations that have been transcribed in patent application format in five languages: English, French, German, Spanish and Japanese. Also, the Indian government established the Central Council for Research in Ayurveda and Siddha (CCRAS) and started publishing the scientific journal International Journal of Advanced Ayurveda, Yoga, Unani, Siddha and Homeopathy (open access).⁸⁴⁻⁸⁶

Some other developments were: The Department of Indian Systems of Medicines established in 2003 the Department of Ayurveda, Yoga & Naturopathy, Unani, Siddha and Homoeopathy (AYUSH) to upgrade educational standards, quality control and standardization of drugs, improving the availability of medicinal plant material, research and development and awareness generation about the efficacy of the systems domestically and internationally.[Dpt of AYUSH, Ministry of Health and Family Welfare, New Delhi, India, <http://indianmedicine.nic.in/>]. In the last decade there are many studies for the evaluation of the effectiveness of Ayurvedic medicine and yoga.⁸⁷⁻⁹⁰

Natural products and reverse pharmacology in drug discovery

Research and identifications of a great number of natural products with interesting biological activities have been the single most productive source of leads for the development of new synthetic drugs particularly as antitumour, antibitoic and anti-infectives agents. Various screening approaches have been developed to improve the ease with which natural products can be used in drug discovery and various screening techniques have been applied to databases of natural products to discover the most bioactive compounds. Scientists hope that the more efficient and effective application of natural products will improve the drug discovery process.

Scientists suggest that a reverse pharmacology approach, inspired by traditional medicine (Chinese, Ayurveda, herbal, etc) can offer a smart strategy for new drug candidates to facilitate discovery process and also for the development of rational synergistic botanical formulations. Strategic options based on natural product drug discovery, ethnopharmacology and traditional medicines are re-emerging to offer good base as an attractive discovery engine. Approaches based on reverse pharmacology may offer efficient development platforms for herbal formulations. A recent review presents relevant case studies from India and other countries where such reverse pharmacology approaches have expedited the drug discovery and development process by reducing time and economizing investments.⁹¹⁻⁹³

In the last decades the pharmaceutical sector has become highly sophisticated and uses the most advanced biochemical techniques and strategies in the discovery of novel therapeutic agents, especially from the complementary and alternative medicines, including natural products and traditional remedies such as Chinese and Indian herbal medicine. More than 60% of the drugs that are in the market derive from natural sources Total sales of the global pharmaceutical market reached US\$600 billions and is expected to expand to over US\$975 billion by 2013. But despite advances in technology, drug discovery is still a lengthy, expensive, difficult, and inefficient process, with a low rate of success. Advances in biomedical science have brought about great strides in therapeutic interventions for a wide spectrum of diseases. The advent of biochemical techniques and cutting-edge biological and chemical technologies has made available a plethora of practical approaches to drug screening and design.⁹⁴

In the last two decades there are many changes in the discovery and development of new drugs.

Research aimed at exploiting natural products as a resource of new pharmaceutical agents has seriously declined. This is in part due to the development of new technologies such as combinatorial chemistry, metagenomics and high-throughput screening. However, the new drug discovery approaches did not fulfilled the initial expectations. This has lead for many international pharmacological industries to renew their interests in natural products, determined by the urgent need for new drugs, in particular to fight against infections caused by multi-resistant pathogens.⁹⁵

Conclusions

Drug discovery from natural products has enjoyed a renaissance in the past last five decades. Despite the

big changes natural-derived compounds from plants and animals still play a major role as drugs, and as lead structures for the development of synthetic molecules. It is estimated that 50-60% of the drugs introduced to the market during the last 20 years are derived directly or indirectly from small biogenic molecules. In the future, bioactive natural products will continue to play a major role as active substances, model molecules for the discovery and validation of drug targets. A multidisciplinary approach to drug discovery involving the generation of novel molecular diversity from natural product sources, combined with combinatorial organic synthetic chemistry methodologies provided in the last decades the best solution to increase the productivity in drug discovery and development.

Από την Παραδοσιακή Ιατρική στην Σύγχρονη Εποχή των Συνθετικών Φαρμάκων.

Φυσικά Προϊόντα και Ανάστροφη Φαρμακολογία ως Προσέγγιση που επιταχύνει την Ανακάλυψη Νέων Φαρμάκων

Θωμάς Βλαχογιάννη, Σπυρίδων Λωρίδας, Κωνσταντίνος Φιωτάκης και Αθανάσιος Βαλαβανίδης
Τμήμα Χημείας, Πανεπιστήμιο Αθηνών, Πανεπιστημιούπολη Ζωγράφου, 15784 Αθήνα

Περίληψη

Η Παραδοσιακή Ιατρική είναι «σύνολο πρακτικών υγιεινής που αναπτύχθηκαν επί αιώνες, ενσωματώνοντας γνώσεις, επιδεξιότητες και πρακτικές που βασίζονται σε δοξασίες και εμπειρίες από γηγενείς λαούς και από διαφορετικούς πολιτισμούς». Οι αυτόχθονες λαοί στις ιατρικές πρακτικές τους χρησιμοποιούσαν φυτά, ζώα και ανόργανα άλατα, πνευματικές θεραπείες, χειροπρακτικές τεχνικές και ασκήσεις για να θεραπεύσουν, να διαγνώσουν και να προφυλάξουν τους ανθρώπους από διάφορες ασθένειες. Παρά τις προόδους που έχουν επιτευχθεί τις τελευταίες δεκαετίες με τα μοντέρνα ιατρικά και φαρμακολογικά προϊόντα και νέες ιατρικές τεχνολογίες, σε πολλές Ασιατικές και Αφρικανικές χώρες πάνω από 80% του πληθυσμού εξαρτάται από παραδοσιακές πρακτικές για τις ανάγκες της υγείας τους. Αν και δεν είναι πάντοτε επιτυχής και αποτελεσματική, η παραδοσιακή ιατρική χρησιμοποιήθηκε επί αιώνες για την υγεία, την πρόληψη, διάγνωση και θεραπεία της φυσικής και πνευματικής υγείας των ανθρώπων με απλές μεθόδους και με μεγάλο αριθμό φυσικών προϊόντων που εκχυλίσθηκαν από φυτά, ζώα και μικρόβια. Φυσικά προϊόντα που χρησιμοποιήθηκαν για μεγάλα χρονικά διαστήματα και για μεγάλη ποικιλία ασθενειών προμήθευσαν με σημαντική αξία τη μοντέρνα φαρμακευτική βιομηχανία στον τελευταίο μισό αιώνα, ειδικά για την ανακάλυψη φαρμάκων στις περιοχές των μολυσματικών ασθενειών και των κακοήθων νεοπλασιών. Στην επισκόπηση

αυτή παρουσιάζουμε μια συνεκτική περιγραφή της προόδου που έχει επιτευχθεί τις τελευταίες δεκαετίες με την παραδοσιακή ιατρική (Κινεζική, Αγιορβεδική, βοτανοθεραπείες, κλπ) και την αποδοχή της από τη Παγκόσμια Οργάνωση Υγείας και τη Συνέλευση (Φόρουμ) Παγκόσμιας Υγείας. Επίσης, η επισκόπηση παρουσιάζει πως τα φυσικά προϊόντα έγιναν ένα ενδιαφέρον υπόβαθρο για τη μοντέρνα φαρμακευτική βιομηχανία και για την ανακάλυψη νέων φαρμάκων για διάφορα νοσήματα. Φυσικά η αλόγιστη χρήση βοτάνων μπορεί να προκαλέσει βλάβες στην υγεία. Η επιστημονική κοινότητα έχει ανησυχήσει για θέματα ασφάλειας της παραδοσιακής ιατρικής και έχουν μελετηθεί με καλύτερα σχεδιασμένες έρευνες, κλινικές μελέτες και συστήματα φαρμακοεπαγρύπνησης. Οι προσεγγίσεις της ανάστροφης φαρμακολογίας εμπνευσμένες από την παραδοσιακή ιατρική προσφέρουν ευφείς στρατηγικές για υποψήφια νέα φάρμακα και διευκολύνουν την ανάπτυξη λογικών συνεργικών βοτανολογικών συνταγών. Υπάρχουν πολλές διεθνείς τράπεζες πληροφοριών για φυσικά προϊόντα και την επίδρασή τους στην ανακάλυψη νέων φαρμακευτικών υλικών. Επίσης, η επισκόπηση περιέχει από ιστορική άποψη εμπορικά επιτυχημένα παραδείγματα μερικών φυσικών προϊόντων που αποτελούν εδώ και χρόνια φαρμακολογικά προϊόντα.

Αλληλογραφία: Α. Βαλαβανίδης,
E-mail: valavanidis@chem.uoa.gr

References

1. Ravina E. The Evolution of Drug Discovery: From Traditional Medicines to Modern Drugs. John Wiley & Sons, New York, 2011.
2. Newman, D.J., Cragg, G.M. Natural products as sources of new drugs over the last 25 years. *J. Nat. Prod.* 70: 461-477, 2007.
3. Ngo L.T., Okogun J.I., Folk W.R. 21st century natural product research and drug development and traditional medicines. *Nat. Prod. Report* 30(4): 584-592, 2013.
4. Yanchi L. *The Essential Book of Traditional Chinese Medicine*. Columbia University Press, New York, 1988.
5. Saad B., Azaizeh H., Said O. Tradition and perspectives of Arab herbal medicine: A review. *Evidence-Based Complem. Altern. Med.* 2 (4): 475-479, 2005.
6. Bodeker G., Ong C.K., Grundy C., Burford G., Shein K. (2005) *Who Global Atlas of Traditional, Complementary and Alternative Medicine*. WHO, Kobe (Japan)
7. Mezzich J.E. The Geneva Conferences and the emergence of the international network for person-centered medicine. *J. Eval. Clin. Pract.* 17, 333-336, 2011.
8. Shinde V.M., Dhalwal, K., Potdar M., Mahadik, K.R. Application of quality control principles to herbal drugs. *Int. J. Phytomedic.* 14-8, 2009.
9. Li J. W-H., Vederas J.C. Drug discovery and natural products: end of an era or an endless frontier? *Science* 325,161-165, 2009.
10. Blunt J., Munro M., Upjohn M. (2012) The role of databases in marine natural products research. In: Fattorusso E., Gerwick W.H., Tagliatela-Scafati A (Eds). *Handbook of Marine Natural Products*. Springer Science, Berlin, pp. 390-420.
11. Chang J. Scientific evaluation of traditional Chinese medicine under DSHEA: a conundrum. *J. Altern. Complem. Med.* 5,181 189, 1999.
12. WHO. *National Policy on Traditional Medicine and Regulation of Herbal Medicines - Report of a WHO Global Survey* (PDF), 2005; pp.168 .
13. Boullata J.I., Nace A.M. *Safety issues with herbal medicine*. Pharmacotherapy: *J. Hum. Pharmacol. Drug Ther* 20, 257-269, 2000.
14. Ernst E. Toxic heavy metals and undeclared drugs in Asian herbal medicines. *Trends Pharmacol. Sci.*, 23 (3): 136-139, 2002.
15. Ernst E. The efficacy of herbal medicine-an overview. *Fundam. Clin. Pharmacol.* 19, 405-409, 2005.
16. Mosihuzzaman M. Herbal medicine in healthcare-an overview. *Natur. Prod. Commun.* 7, 807-812, 2012.
17. Debbie S., Ladds G., Duez P., Williamson E., Chan K. Pharmacovigilance of herbal medicine. *J. Ethnopharmacol.* 140, 513-518, 2012.
18. Nortier JL, Vanherweghem, J-L. . For patients taking herbal therapy—lessons from aristolochic acid nephropathy. *Nephrol. Dialys. Transplant.* 22, 1512-1517, 2007.
19. Rodrigues E, Barnes J. Pharmacovigilance of herbal medicines: the potential contributions of ethnobotanical and ethnopharmacological studies. *J. Drug Saf.* 36,1-12, 2013.
20. World Health Organization. WHO *Guidelines on Safety Monitoring of Herbal Medicines in Pharmacovigilance Systems*. WHO publications, Geneva, 2004.
21. Gould L. Practical pharmacovigilance analysis strategies. *Pharmacoepidemiol Drug Saf.* 12,559–574, 2003.
22. Silano M, De Vincenzi M, De Vincenzi A, Silano V. The new European legislation on traditional herbal medicines: main features and perspectives *Fitoterapia* 75, 107-116, 2004.
22. Barnes J. Pharmacovigilance of herbal medicines: A UK perspective. *Drug Safety*, 26, 829–851, 2003.
23. Gryzlak B.M., Wallace R.B., Zimmerman M.B., Nisly, N.. National surveillance of herbal dietary supplement exposures: the poison control center experience. *Pharmacoepidemiol. Drug Saf.* 16, 947–957, 2007.
24. Menniti-Ippolito F, Mazzanti G, Santuccio C, Moro P, Calapai G, Firenzuoli F., Valeri F., Raschetti R. Surveillance of suspected adverse reactions to natural health products in Italy. *Pharmacoepidemiol. Drug Saf.* 17, 626–635, 2008.
25. Jacobsson I., Jönsson A.K., Gerdén B., Hägg S. . Spontaneously reported adverse reactions in association with complementary and alternative medicine substances in Sweden.. *Pharmacoepidemiol. Drug Saf.* 18, 1039-1047, 2009.
26. Perharic L., Shaw D., Leon C., De Smet P.A., Murray V.S. Possible association of liver damage with the use of Chinese herbal medicine for skin disease. *Veterin. Hum. Toxicol.* 37,562–566, 1995
27. Shaw D. Toxicological risks of Chinese herbs. *Planta Medica*, 76, 2012–2018, 2010.
28. Shaw D. Investigation of liver toxicity of Chinese

- herbal medicine: pilot case-control study. *Drug Safety*, 33,918–919, 2010.
29. Williamson E.M., Driver S., Baxter K. (Eds.) (2009) *Stockley's Herbal Medicines Interactions*. Pharmaceutical Press, London, UK.
 30. Eisenberg D.M., Kessler R.C., Foster C., Foster C., Norlock F.E., Calkins D.R., Delbanco T.L. Unconventional medicine in the United States. Prevalence, costs, and patterns of use. *N. Engl. J. Med.* 328,246, 1993.
 31. Eisenberg D.M., Davis R.B., Ettner S.L., Appel S., Wilkey S., van Rompay M., Kessler R.C. Trends in alternative medicine use in the United States, 1990-1997: results of a follow-up national survey. *JAMA* 280,1569-1575, 1998.
 32. Vlietinck A., Pieters L., Apers S. Legal requirements for the quality of herbal substances and herbal preparations for the manufacturing of herbal medicinal products in the European Union. *Planta Med.* 75,683-688, 2009.
 33. Ernst E. Harmless herbs? A review of the recent literature. *Am. J. Med.* 104,170-178, 1998.
 34. Patel D.N., Low L.L., Tan M.M.B., Adverse events associated with the use of complementary medicine and health supplements: An analysis of reports in the Singapore Pharmacovigilance database *Clin. Toxicol* 50, 481-489, 2012
 35. Kayne S.B. (2010) *Traditional Medicine: A Global Perspective*. Pharmaceutical Press, State University of Pennsylvania, USA,.
 36. Patwardhan B. (2007) *Drug Discovery and Development: Traditional Medicine and Ethnopharmacology*. New India Publishing, New Delhi.
 37. Kinghorn A.D., Chin Y.-W., Swanson S.M. *Discovery of Natural Product Anticancer Agents from Biodiverse*. *Curr Opin. Drug Discov. Devel.* 12, 189–196, 2009.
 38. Brahmachari G. (2010) *Natural Products in Drug Discovery: Impacts and Opportunities—An Assessment*. World Scientific Publishing Co, Singapore, Books; Brahmachari G (editor) (2011) *Bioactive Natural Products: Opportunities and Challenges in Medicinal Chemistry*, World Scientific Publishing Co., Singapore..
 39. Cordell G.A. (2001) *The Alkaloids: Chemistry and Biology*. Volume 56, Elsevier, New York.
 40. Hesse M. (2002) *Alkaloids: Nature's Curse or Blessing?* John Wiley-VCH, Dordrecht.
 41. Singh B.K., Tripathi M., Chaudhari B.P., Pandey P.K., Kakkar P. Natural terpenes prevent mitochondrial dysfunction, oxidative stress and release of apoptotic proteins during nimesulide-hepatotoxicity in rats. *PLOS One* 7, e34200, 2012.
 42. Zwenger S., Basu, C. Plant terpenoids: Applications and future potentials. *Biotechnol. Mol. Biol. Rev.* 3, 1–7, 2008.
 43. Shahidi F., Ho C-T. (Eds) (2005). *Phenolic Compounds in Foods and Natural Health Products*. American Chemical Society Conference Series. Volume 909, ACS Publications, Washington DC.
 44. Grotewold E. (2008) *The Science of Flavonoids*. Springer Science, Berlin.
 45. Mascaretti O.A. (2003) *Bacteria Versus Antibacterial Agents: An Integrated Approach*. ASM Press (American Society for Microbiology), Washington DC.
 46. Walsh C. (2003) *Antibiotics: Actions, Origins, Resistance*, ASM Press, Washington DC.
 47. Scholar, E.M., Pratt, W.B.(Eds.) (2000) *Antimicrobial Drugs*, 2nd ed. Oxford University Press, New York.
 48. Lattmann E., Billington D.C., Poyner D.R., Howitt S.B., Offel M. Synthesis and evaluation of asperlicin analogues as non-peptidic cholecystokinin-antagonists. *Drug Des. Discov.* 17,219-230, 2001.
 49. Vinayak S., Schwartz E.J., Jensen K., Lipson J, Alli E., McPherson L., Fernandez A.M., Sharma V.B., Staton A., Mills M.A., Schackmann E.A., Telli M.L., Kardashian A., Ford J.M., Kurian A.W. A clinical trial of lovastatin for modification of biomarkers associated with breast cancer risk. *Breast Cancer Res Treat.* 142,389-398, 2013.
 50. Yoshida E.M., Lilly L.B., Marotta P.J., Mason A.L., Bilodeau M., Vaillancourt M. Canadian national retrospective chart review comparing the long term effect of cyclosporine vs. tacrolimus on clinical outcomes in patients with post-liver transplantation hepatitis C virus infection. *Ann. Hepatol.* 12, 282-293, 2013.
 51. Gerwick W.H., Moore B.S. Lessons from the past and charting the future of marine natural products drug discovery and chemical biology. *Chem. Biol.* 19, 85-98, 2012.
 52. Mayer A.M.S., Rodriguez A.D., Berlinck R.G.S., Fusetani N. Marine pharmacology in 2007–2008: Marine compounds with antibacterial, anticoagulant, antifungal, anti-inflammatory, antimalarial, antiprotozoal, antituberculosis, and antiviral activities; affecting the immune and nervous system, and other miscellaneous mechanisms of action. *Comp Biochem Physiol C-Toxicol Pharmacol* 153, 191-222, 2011.

53. Blunt J.W., Copp B.R., Keyzers R.A., Munro M.H., Prinsep M.R. Marine natural products. *Nat. Prod. Rep.* 29, 144-222, 2012.
54. Montaser R., Luesch H. Marine natural products: a new wave of drugs? *Future Med. Chem.* 3,1475-1489, 2011.
55. Liu Y. Renaissance of marine natural product drug discovery and development. *J. Marine Sci. Res. Develop. (open access)* 2:e106, 2012.
56. Corey E.J., Gin D.Y., Kania R.S. Enantioselective Total Synthesis of Ecteinascidin 743. *J. Am. Chem. Soc.* 118,9202–9203, 1996.
57. Schuler M.K., Richter S., Platzeck I., Beuthien-Baumann B., et al. Trabectedin in the neoadjuvant treatment of high-grade pleomorphic sarcoma: report of a rare case and literature review. *Case Rep. Oncol. Med.* 2013: ID:320797, 5 pages, 2013.
58. Panda H. (2010)*Handbook on Drugs from Natural Sources*. Asia Pacific Business Press Inc., New Delhi.
59. Dossey A. Insects and their chemical weaponry: New potential for drug discovery". *Nat. Prod. Rep.* 27, 1737–1757, 2010.
60. Baker D.D., Chu M., Oza U., Rajgarhia V. The value of natural products to future pharmaceutical discovery. *Nat. Prod. Rep.* 24, 1225–1244, 2007.
61. Jacob E.J. Natural products-based drug discovery: some bottlenecks and considerations. *Current Sci.* 96, 753-754., 2009.
62. Butler M.S., The Role of Natural Product Chemistry in Drug Discovery. *J. Nat. Prod.*, Vol. 67, 2141-2153, 2004.
63. Lahlou M. The success of natural products in drug discovery *Pharmacol. Pharmacy* 4, 17-31, 2013.
64. Valli M., dos Santos R.N., Figueira L.D., Nakajima C.H., Castro-Gamboa I., Andricopulo A.D., Bolzani V.S. Development of a natural products database from the biodiversity of Brazil. *J. Nat. Prod.* 76, 439-444, 2013.
65. Li X., Yang G., Li X., Zhang Y., Yang J. et al. Traditional Chinese medicine in cancer care: a review of controlled clinical studies published in chinese. *PLoS One* 8, e60338, 2013.
66. Leung A.Y. Traditional toxicity documentation of Chinese Materia Medica--an overview. *Toxicol. Pathol* 34,319-326, 2006.
67. Shaw D. Toxicological risks of Chinese herbs. *Planta Med.* 76,2012-2018, 2010.
68. Zhang L., Yan J., Liu X., Ye Z., Yang X. et al. Pharmacovigilance practice and risk control of Traditional Chinese Medicine drugs in China: current status and future perspective. *J. Ethnopharmacol* 140,519-525, 2012.
69. Xu S., Wang L., Cooper E., Zhang M., Manheimer E., et al. Adverse Events of Acupuncture: A Systematic Review of Case Reports. *Evidence Based Complementary and Alternative Medicine* ID581203: 1-15, 2013.
70. Ernst E., Lee M.S., Choi T-Y. Acupuncture: Does it alleviate pain and are there serious risks? A review of reviews. *Pain* 152, 755–764, 2011.
71. Ernst E. Acupuncture-a critical analysis. *J. Int. Med.* 259, 125–137, 2006.
72. Bensky D., Gamble A. (1993) *Chinese Herbal Medicine: Materia Medica*. Rev. Seattle, WA (Ed). Eastland Press; Seattle, WA.
73. O'Brien K.A., Xue C.C.(2003) The theoretical framework of Chinese medicine. In: Leung P.C., Xue C.C., Cheng Y.C. (Eds). *A Comprehensive Guide to Chinese Medicine*: World Scientific Publishing Co, River Edge, NJ.
74. *Handbook of Chinese Medicinal Plants. Chemistry, Pharmacology, Toxicology* (2010) 1296 pp, John Wiley and Sons Ltd, New York.
75. Scheid V., Bensky D., Ellis A., Barolet R. (2009) *Chinese Herbal Medicine: Formulas and Strategies* (2nd ed). Eastland Press, Seattle, WA.
76. Khare C.P. (2007) *Indian Medicinal Plants: An Illustrated Dictionary*. Springer, Science, Berlin/Heidelberg.
77. Khare C.P. (Ed). (2004) *Indian Herbal Medicines: Rational Western Therapy, Ayurvedic and Other Traditional Usage, Botany*. Springer, Berlin/Heidelberg.
78. JKrishna S, Rao R., Pratashan P. (2004) *Encyclopaedia of Indian Medicine: Material Medica-Herbal Drugs*, Vols 1-4, Dr V. Parameshvara Charitable Trust, Pamdas Bhatkal, Bangalore.
79. Kutumbiah P. (1999) *Ancient Indian Medicine*. Orient Longman, Hyderabad 500 029, Andhra Pradesh, India.
80. Lad V. Textbook of Ayurveda Vol. 1: Fundamental Principles. Ayurvedic Press, Albuquerque, New Mexico, 2002.
81. Tiwari M. Ayurveda: *A Life of Balance*. (1994) *The Complete Guide to Ayurvedic Nutrition and Body Types with Recipes*. Healing Arts Press, Rochester, VT.
82. Saper R.B., Phillips R.S., Sehgal A., Khouri N., Davis R.B., Paquin J., Thuppil V., Kales S.N. Lead, mercury, and arsenic in US- and Indian-manufactured ayurvedic medicines sold via the internet. *JAMA* 300, 915–923, 2008.

83. Valiathan M.S. Ayurveda: putting the house in order. *Current Sci.* (Indian Academy of Sciences) 90,5–6, 2006.
84. Chaudhary A., Singh N. Intellectual property rights and patents in perspective of Ayurveda. *Ayu.* 33(1):20-26, 2012.
85. Lodha R., Bagga A. Traditional Indian systems of medicine. *Ann. Acad. Med. Singapore.* 29, 37-41, 2000.
86. Mukherjee P. Evaluation of Indian Traditional Medicine. *Therap. Innov. Regul. Sci. -Open Access* 35,623-632, 2001.
87. Park J.; Ernst E. Ayurvedic Medicine for Rheumatoid Arthritis: A Systematic Review. *Semin. Arthritis Rheumat.* 34, 705–709, 2005.
88. Mamtani R., Mamtani R. Ayurveda and Yoga in cardiovascular diseases. *Cardiology Rev.* 13, 155–160, 2005.
89. Fritts M., Crawford C.C., Quibell D., Gupta A., Jonas W.B., Coulter I., Andrade S.A. Traditional Indian medicine and homeopathy for HIV/AIDS: a review of the literature. *AIDS Res. Ther.* (open access) 5,1-9, 2008.
90. Cash R. Reviewing trials of traditional medicines and other challenges faced by ethics committees. *Indian J. Med. Ethics* 5,1850187, 2008.
91. Patwardhan B., Mashelkar R.A. Traditional medicine-inspired approaches to drug discovery: can Ayurveda show the way forward? *Drug Discov. Today* 14, 804-811, 2009.
92. Patwardhan B., Vaidya A.D.B. Natural products drug discovery: accelerating the clinical candidate development using reverse pharmacology approaches. *Indian J. Exper. Biol.* 48,220-227, 2010.
93. Harvey A.L. Natural products in drug discovery. *Drug Discov. Today* 13,894-901, 2008.
94. Pan S.Y, Pan S., Yu Z.L., Ma D.L., Chen S.B., Fong W.-F., Han Y.-F., Ko K.-M. New perspectives on innovative drug discovery: an overview. *J. Pharm. Pharm. Sci.* 13, 450-471, 2010.
95. Molinari G. Natural products in drug discovery: present status and perspectives. *Adv. Exp. Med. Biol.* 655,13-27, 2009.

The Importance of Continuous Updating the Applicability Domain of logP Prediction Models The Case of Pyrrolyl-Acetic Acid Derivatives

Marios Chrysanthakopoulos,¹ Theodosia Vallianatou,¹
Vassilis J. Demopoulos,² Anna Tsantili-Kakoulidou^{1*}

¹ Department of Pharmaceutical Chemistry, School of Pharmacy,
University of Athens, Panepistimiopolis, Zografou, Athens 157 71, Greece

² Department of Pharmaceutical Chemistry, School of Pharmacy,
Aristotle University of Thessaloniki, Thessaloniki 54124, Greece

Abstract

In the present study the logP prediction performance was evaluated applying algorithms based on Neural Networks prior and after library corrections by the user, as well as after library training. As exemplars for such evaluation a data set of 18 pyrrolyl-acetic acid derivatives was selected considering the difficulties accounted in their lipophilicity predictions, previously investigated. The applied algorithms were ALOGPS 2.1, as it is implemented in Virtual Computational Chemistry Laboratory and after user's library corrections, the updated version of ALOGPS (3.01) which has been retrained including among others the experimental data of pyrrolyl-acetic acid derivatives in the input data set, as well as S+logP an artificial neural network ensemble algorithm based on 13000 compounds of the Starlist implemented in MedChem Designer. Results were compared to those obtained in our previous publication as well as with two further linear models, Moriguchi atom type system and Meylan-Howard atom/fragment system. The difference pattern, the mean absolute error, the geometric mean of absolute error as well as the inter-relation between experimental and predicted logP values were considered as criteria for the evaluation of software performance.

Introduction

Lipophilicity, expressed by the logarithm of n-octanol/water partition coefficient logP constitutes

a physicochemical property of paramount importance in Drug Design^{1,2}. The difficulties associated with the direct partitioning experiments in combination with the requirement for rapid lipophilicity screening of compound libraries led to the development of a large arsenal of calculation systems³⁻⁹. They constitute semi-empirical substructural approaches derived from experimental data and are based on the additivity principle. They can be classified into fragmental and atomic contribution methods. The first cuts the molecules into fragments and assign constants to each of them. Fragmental constants summation in combination with correction rules results in the logP values of the molecule. Leo-Hansch and Rekker's calculation systems belong to these methods^{3,4}. The second approach cuts the molecules down to the single-atom level (atom types), considering the structural neighborhood over a certain number of paths. Atomic contribution methods work in most cases without correction factors, since the chemical environment has been incorporated in the single-atom contributions. Broto⁵, Ghose -Crippen⁶, Meylan-Howard⁷, Moriguchi⁸ are the most representative systems, following this concept. Nevertheless, the above mentioned approaches constitute linear models. Artificial Neural Networks (ANN) and Associative Neural Network (ASNN)¹⁰ introduce non linearity and are used as an alternative tool for lipophilicity predictions. They are constructed utilizing fragments or atom types as input data as well as

*Correspondence: Anna Tsantili-Kakoulidou, tsantili@pharm.uoa.gr

electrotopological state indices, which encompass both electronic and geometrical information^{11, 12}. Such information is compatible with the complex nature of lipophilicity which can be factorized into two major components, a hydrophobic and a polar one according to the expression¹³⁻¹⁵:

$$\text{Lipophilicity} = \text{Hydrophobicity} - \text{Polarity}$$

Further attempts to approximate logP by models derived from constitutional and quantum chemical descriptors include parameters which support the above assumption^{16,17}.

The different algorithms suggested for logP predictions have been implemented in analogous large number of software, the most popular being ClogP³, KOWWIN⁷, ACD/logP¹⁸, XLOGP¹⁸, ADMEBoxes²¹ –based on linear methods, PrologP²² including both linear and ANN methods, MedChem Designer²³ based on ANN, ALOGPS²⁴ based on ASNN. A major drawback of such software is their applicability domain. They have been developed using compounds either or in combination from the same public set of databases like Biobyte Starlist²⁵ and PHYSPROP²⁶; thus their reliable predictions lie within the Public Optimum Prediction Space (POPS) defined by these public series of compounds. Outside the POPS prediction of all these methods may be poor, while a large variation in the results of different program could be observed. A survey by Tetko *et al* on logP predictions of Astra-Zeneca (8750 molecules) and Pfizer (7498 molecules) proprietary databases revealed that molecules with property-based similarity higher than 0.8 to molecules within POPS are predicted with mean absolute error about 0.30-0.35, analogous to the experimental error²⁷. The mean absolute error however increased exponentially for molecules with lower degree of similarity. Thus the medicinal chemist is often confronted with the situation that within a series of compounds different logP values are estimated by different software, in particular when the compounds belong to new chemotypes^{28,29}. Such variations in logP prediction were confronted for a series of pyrrolyl-acetic acid derivatives, designed and synthesized as inhibitors of aldose reductase. Different logP predictions were generated by the various algorithms used, while their correlation with experimental values was poor to moderate³⁰. Discrepancies in predicted logP values of pyrrolyl-acetic acid derivatives were further reflected in the failure to identify any trend between biological activity and lipophilicity, while such a trend was shown to be present if experimental data were used³⁰.

Thus, existing software need to be continuously updated with new data. However, synthetic capabilities in combination with scaffold hopping/morphing keep producing new chemotypes coming always ahead of any real time updating of the algorithms. In order to improve software performance PharmaAlgorithms ADME boxes makes use of compounds in its library to refine predictions on the basis of similarity rules within, however, the existing POPS^{21,31}. To extend the Optimum Prediction Space the software should be made smart enough to learn ‘on the fly’ specific structural features present in the user’s molecules. ACD/logP algorithm has such a possibility and can be trained by new data, breaking down their structure into most important components and rescaling its parameters according to the newly identified fragments. Such option is feasible to linear regression methods but cannot be implemented in ANN systems, in which, after training is complete, all information about the input patterns is stored in the neural network weights. Retraining of ANN is a time consuming task, while if the amount of new data is small it is insufficient to completely develop a new model¹⁰.

In contrast, the Associative Neural Network (ASNN), a combination of artificial neural network and k-nearest neighbor approaches, has ‘memory’ which, upon inclusion of new data in the library, provides an extension of the Optimal Prediction Space (OPS). Thus, prediction performance can be improved without the need to retrain the neural network ensemble. ALOGPS, implemented in Virtual Computational Chemistry Laboratory, is software, freely available in the Internet, which permits such library extension by the user^{33,34}.

The aim of the present study is to evaluate the prediction performance of algorithms based on Neural Networks prior and after library corrections by the user, as well as after library training. In regard to the difficulties accounted in the lipophilicity predictions of pyrrolyl-acetic acid derivatives previously investigated, we considered these compounds suitable to be used as exemplars for such evaluation. The applied algorithms were ALOGPS 2.1, as it is implemented in Virtual Computational Chemistry Laboratory and after user’s library corrections, the updated version of ALOGPS (3.01) which has been retrained including among others the experimental data of pyrrolyl-acetic acid derivatives in the input data set³⁵, as well as S+logP an artificial neural network ensemble algorithm based on 13000 compounds of the Starlist implemented in

MedChem Designer²³. Results were compared to those obtained in our previous publication as well as with two further linear models, Moriguchi atom type system and Meylan–Howard atom/fragment system.

Materials and Methods

Chemical Structures and experimental logP values were taken from reference³⁰. They are presented in Figure 1 and Table 1 respectively.

The following algorithms were used for logP predictions:

ALOGPS 2.1 i) as it is available at Virtual Computational Chemistry Laboratory, and ii) after library corrections. Library corrections were made a) by using 17 compounds for correction library to predict the one excluded until all compounds have been left out once, b) by using a library of 10 compounds selected in random but adequately representing the chemical space covered by the data set, to predict the remaining 8 compounds, and c) by using the 8 compounds as library to predict the 10 remaining compounds.

ALOGPS 3.01 (<http://www.eadmet.com/en/physprop.php>).

This version is updated ALOGPS, retrained with new input data, among which the 18 pyrrolyl-acetic acid derivatives are included.

S+logP, as implemented in MedChem Designer (TM) version 2.5.0.8, Copyright © 2011-2012 Simulations Plus, Inc. (<http://www.simulations-plus.com>), and Moriguchi system (MlogP) implemented in the same software

Meylan–Howard (KOWWIN) atom/fragment system as implemented in EPISUITE41, Copyright 2000-2012 U.S. Environmental Protection Agency (<http://www.epa.gov/oppt/exposure/pubs/episuitedl.htm>).

Statistical Analysis

For regression analysis and descriptive statistics Statistica – Axa 7.0 software package (StatSoft, Tulsa, Oklahoma, USA) was used.

Results and Discussion

Predicted logP values are presented in Table 1 along with experimental data taken from reference³⁰. Their differences from experimental logP are presented in Table 2. The difference pattern, the mean absolute error as well as the geometric mean of absolute

error were calculated and considered as criteria for the evaluation of software performance. They are presented in Table 3. As a further criterion the interrelation between experimental and predicted logP values was established and presented in Table 4.

For the difference pattern three levels of prediction quality were considered. Predictions with absolute deviations $\Delta < 0.49$ were classified as good estimates. Predictions with deviations $0.50 < \Delta < 0.99$ were regarded as disputable, while predictions with deviations $\Delta > 1$ were unacceptable^{29,30}.

In our previous publication ClogP, PrologP (modules CDR, atomic, atomic6, ANN and ANN05), ADME Boxes and ALOGPS 2.1 (visited 2009) were applied for logP estimation of the same pyrrolyl acetic acid derivatives. Rekker's fragmental system – CDR module, as well as the two ANN models implemented in PrologP- were found to provide the lowest MAE values -0.31, 0.37, 0.51 respectively. ALOPS 2.1 (visited 2009) showed a large MAE (1.03). In the present study the same software, visited 2013, led to slightly better predictions with MAE=0.968. Its difference pattern was also improved with 2 good predictions, 7 still acceptable and 9 unacceptable compared to 5 and 11 still acceptable and unacceptable predictions provided in 2009³⁰. Library correction of ALOGPS 2.1 led to significantly better predictions depending on the number of compounds used as new input data. The number of good prediction increased to 11, 10 and 6 for input data 17, 10 and 8 respectively while the corresponding unacceptable predictions were 1, 2 and 3 respectively. Compound 5, with a trifluoromethyl group, showed large residuals in all cases, even if included in the input data. Mean absolute error decreased almost to half and even more pronounced was the decrease of the geometric mean. A dramatic improvement in predictions was observed in the case of the new version of ALOGPS (3.01), which has been reconstructed including the target compounds in the training set. S+logP predictions also based on an ANN model are slightly better than those obtained by ALOGPS 2.1 without library corrections. In regard to the linear models MlogP predicts well 10 compounds but fails dramatically when a methoxy group is present in the molecule as well as in the case of the bezothiazolyl derivative (17). Interestingly, KOWWIN shows a very good performance with 17 good predictions and 1 still acceptable, and descriptive statistics comparable to those of ALOGPS 3.01.

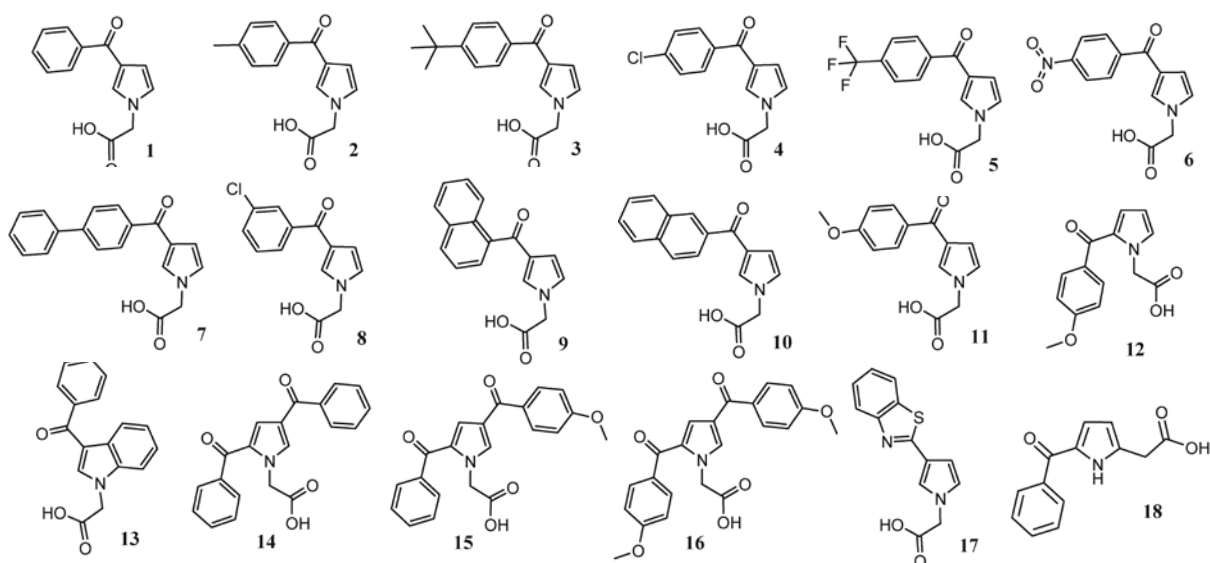


Figure 1. Structures of the studied compounds

Table 1. Experimental and Predicted logP values

<i>cpd</i>	logP	ALOGPs ^a	ALOGPs ^a + library ^b	ALOGPs ^a +library ^c	ALOGPs ^a +library ^d	ALOGPs ^e	S+logP ^f	MlogP ^g	Log Kow ^h
1	0.92	2.23	1.37	1.40 ⁱ	1.69 ^j	1.29	2.157	1.08	1.08
2	1.27	2.63	2.08	2.21 ⁱ	2.04 ^j	1.64	2.543	1.34	1.63
3	2.60	4.00	3.28	3.23 ^j	3.76 ⁱ	2.64	3.631	2.09	2.99
4	1.95	2.93	1.79	1.80 ^j	1.84 ⁱ	1.81	2.862	1.69	1.73
5	2.00	3.43	3.42	3.43 ^j	3.42 ⁱ	2.19	2.693	1.99	2.05
6	0.93	2.13	1.85	1.90 ⁱ	2.06 ^j	1.31	1.876	1.12	0.90
7	2.54	3.93	2.98	3.07 ⁱ	3.29 ^j	2.88	3.845	2.33	2.85
8	1.97	2.93	1.79	1.91 ⁱ	2.00 ^j	1.82	2.836	1.61	1.73
9	1.97	3.34	2.63	2.70 ⁱ	2.49 ^j	2.17	3.332	1.86	2.26
10	2.27	3.37	2.58	2.54 ^j	2.98 ⁱ	2.46	3.301	1.86	2.26
11	1.57	2.31	1.51	1.41 ⁱ	1.58 ^j	1.24	2.445	0.82	1.17
12	1.65	2.26	1.36	1.48 ^j	1.76 ⁱ	1.51	2.420	0.82	1.17
13	2.57	3.26	2.42	2.47 ⁱ	2.37 ^j	2.23	3.272	1.86	2.26
14	2.12	3.37	2.94	3.13 ⁱ	2.87 ^j	2.65	3.564	2.23	2.24
15	2.59	3.27	2.94	2.92 ^j	3.26 ⁱ	2.58	3.583	1.69	2.32
16	3.15	3.06	2.72	2.76 ^j	2.55 ⁱ	2.51	3.557	1.15	2.40
17	2.22	2.78	2.78	2.78 ^j	2.78 ⁱ	2.12	2.182	0.73	1.78
18	1.87	2.17	1.62	1.53 ⁱ	1.60 ^j	2.24	2.153	1.08	1.47

^a ALOGPS 2.1 (<http://www.vcclab.org/lab/alogps/>).

^b The library consists of experimental lipophilicity data of 17 compounds, and it does not include the corresponding value for the compound which its lipophilicity was each time predicted.

^c The library consists of experimental lipophilicity data of 10 compounds (i.e. 1, 2, 6, 7, 8, 9, 11, 13, 14, & 18).

^d The library consists of experimental lipophilicity data of 8 compounds (i.e. 3, 4, 5, 10, 12, 15, 16, & 17).

^e ALOGPS 3.01 (<http://www.eadmet.com/en/physprop.php>).

^f MedChem Designer(TM) version 2.5.0.8, Copyright © 2011-2012 Simulations Plus, Inc. (<http://www.simulations-plus.com>).

^g Moriguchi's atom based method, calculated with MedChem Designer^f.

^h KOWWIN's methodology (Atom/Fragment Contribution method), calculated with EPISUITE41, Copyright 2000-2012 U.S. Environmental Protection Agency (<http://www.epa.gov/oppt/exposure/pubs/episuite41.htm>).

ⁱIncluded in the library ^jNot included in the library

Table 2. Differences $\Delta\log P_{\text{pred}} - \log P_{\text{exp}}$

<i>cpd</i>	ALOGPs ^a	ALOGPs ^a + library ^b	ALOGPs ^a + library ^c	ALOGPs ^a + library ^d	ALOGPs ^e	S+logP ^f	MlogP ^g	Log Kow ^h
1	1.31	0.45	0.48	0.77	0.37	1.24	0.16	0.16
2	1.36	0.81	0.94	0.77	0.37	1.27	0.07	0.36
3	1.4	0.68	0.63	1.16	0.04	1.03	-0.51	0.39
4	0.98	-0.16	-0.15	-0.11	-0.14	0.91	-0.26	-0.22
5	1.43	1.42	1.43	1.42	0.19	0.69	-0.01	0.05
6	1.2	0.92	0.97	1.13	0.38	0.95	0.19	-0.03
7	1.39	0.44	0.53	0.75	0.34	1.31	-0.21	0.31
8	0.96	-0.18	-0.06	0.03	-0.15	0.87	-0.36	-0.24
9	1.37	0.66	0.73	0.52	0.2	1.36	-0.11	0.29
10	1.1	0.31	0.27	0.71	0.19	1.03	-0.41	-0.01
11	0.74	-0.06	-0.16	0.01	-0.33	0.87	-0.75	-0.40
12	0.61	-0.29	-0.17	0.11	-0.14	0.77	-0.83	-0.48
13	0.69	-0.15	-0.1	-0.2	-0.34	0.7	-0.71	-0.31
14	1.25	0.82	1.01	0.75	0.53	1.44	0.11	0.12
15	0.68	0.35	0.33	0.67	-0.01	0.99	-0.90	-0.27
16	-0.09	-0.43	-0.39	-0.6	-0.64	0.41	-2.00	-0.75
17	0.56	0.56	0.56	0.56	-0.10	-0.04	-1.49	-0.44
18	0.3	-0.25	-0.34	-0.27	0.37	0.28	-0.79	-0.40

Superscripts as in Table 1

Table 3. Difference pattern, Mean absolute errors and geometric means

Δ	ALOGPs ^a	ALOGPs ^a + library ^b	ALOGPs ^a + library ^c	ALOGPs ^a + library ^d	ALOGPs ^e	S+logP ^f	MlogP ^g	Log Kow ^h
$\Delta < 0.49$	2	11	10	6	16	3	10	17
$0.5 < \Delta < 0.9$	7	6	6	9	2	8	6	1
$\Delta > 1$	9	1	2	3	0	7	2	0
MAE	0.968	0.497	0.514	0.586	0.268	0.898	0.548	0.291
GeoMean	0.828	0.387	0.378	0.360	0.198	0.743	0.316	0.205

Superscripts as in Table 1

Table 4. Correlations between experimental and predicted logP values

$\log P_{(\text{exp.})} = a \log P_{(\text{calc.})} + b$	a	b	r	s	F
ALOGPs ^a	0.73(±0.17)	-0.17(±0.53)	0.726	0.420	17.8
ALOGPs ^a + library ^b	0.59(±0.16)	0.62(±0.39)	0.676	0.450	13.4
ALOGPs ^a + library ^c	0.57(±0.16)	0.65(±0.40)	0.656	0.460	12.1
ALOGPs ^a + library ^d	0.54(±0.17)	0.67(±0.43)	0.630	0.474	10.5
ALOGPs^e	0.97(±0.15)	0.00(±0.33)	0.846	0.326	40.1
S+logP ^f	0.76(±0.14)	-0.19(±0.43)	0.795	0.370	27.4
MlogP ^g	0.51(±0.26)	1.23(±0.41)	0.441	0.547	3.9
Log Kow ^h	0.83(±0.13)	0.42(±0.26)	0.843	0.328	39.4

Superscripts as in Table 1

According to the inter-relation criterion, a good performance of an algorithm should lead to 1:1 correlation between experimental and calculated values, accompanied by good statistics and in particular by a low standard error of estimate. The above requirements were not fulfilled by the algorithms used in our previous publication (ClogP, ABlogP, and PrologP with modules on Rekkers's fragmental system, Broto's and Ghose -Crippen's atomic contribution system and two ANN models). The best correlation was reported for the non linear Artificial Neural Network model ANN2005 implemented as a module in PrologP ($r=0.844$, $s=0.327$) with intercept close to 0 but slope equal to 0.76.

Correlation between experimental logP and logP predicted in the present study are presented in Table 4. ALOGPS 3.01 was found to provide analogous statistical data, leading however to 1:1 correlation. In terms of statistics, similar results were obtained also by the linear model KOWWIN; the intercept of the regression equation is not statistically significant, however the slope is lower than one. The performance of ALOGPS 2.1 (interactively used in 2013) 'as it is' is moderate but slightly better than the results reported in ref 30 (interactively used in 2009). Library corrections lead to inferior regression equations. However, it should be noted that in these cases predicted logP values of the compounds used as input for library corrections -and thereupon refined- are combined with those of the remaining set, producing a bias in the initial algorithm; thus in this case the inter-relation criterion may not be adequate for the evaluation.

Conclusions

The careful selection of the appropriate calculation system for logP prediction is very critical, in particular when new chemotypes, not lying in public applicability domain, are concerned. Continuous updating of the programs improves the predictive power, however it may always pose uncertainty remaining beyond the needs of the medicinal chemist whose ambition is to explore activity cliffs throughout the chemical landscape. Therefore, the possibility of interactive training provided by existing software, as in the case of ALOPS 2.1, gives more confidence to logP predictions according to the user's practical goals.

Η Σημασία της Συνεχούς Επικαιροποίησης του Πεδίου Εφαρμογής των Αλγορίθμων Υπολογισμού του Συντελεστή Μερισμού. Η Περίπτωση των Παραγώγων του Πυρρολυλο-Οξικού Οξέος.

Μάριος Χρυσανθακόπουλος,¹

Θεοδοσία Βαλλιανάτου,¹

Βασίλης, Ι. Δημόπουλος,²

Αννα Τσαντίλη-Κακουλίδου^{1*}

¹Τομέας Φαρμακευτικής Χημείας, Τμήμα Φαρμακευτικής, Πανεπιστήμιο Αθηνών, Πανεπιστημιόπολις, Ζωγράφου, Αθήνα 157 71

²Τομέας Φαρμακευτικής Χημείας, Τμήμα Φαρμακευτικής, Αριστοτέλειο Πανεπιστήμιο Θεσσαλονίκης, Θεσσαλονίκη, 54124

Περίληψη

Στην παρούσα εργασία μελετήθηκε η ικανότητα πρόβλεψης του συντελεστή μερισμού με χρήση αλγορίθμων που βασίζονται σε Νευρωνικά Δίκτυα χωρίς ή με διορθωτική παρέμβαση στη βάση δεδομένων τους, καθώς επίσης και της εξαρχής εκμάθησής τους. Ως παράδειγμα εργασίας επιλέχθηκε η σειρά των 18 παραγώγων του πυρρολυλο-οξικού οξέος που παλαιότερη μελέτη είχε αναδείξει το προβληματικό αποτέλεσμα του υπολογισμού του συντελεστή μερισμού. Οι αλγόριθμοι που χρησιμοποιήθηκαν ήταν α) ο ALOGPS όπως εμπεριέχεται στο Virtual Computational Chemistry Laboratory καθώς και μετά από διορθωτική παρέμβαση στη βάση δεδομένων του, β) η επικαιροποιημένη έκδοση του ALOGPS (3.01) στην οποία ο αλγόριθμος έχει υποβληθεί σε επανεκμάθηση με χρήση, μεταξύ άλλων, και των 18 υπό εξέταση πυρρολυλο-οξικών παραγώγων & γ) του S+logP που είναι αλγόριθμος συλλογής τεχνικού Νευρωνικού Δικτύου με βάση 13000 ενώσεις της Starlist και εμπεριέχεται στο MedChem Designer. Τα αποτελέσματα συγκρίθηκαν με αυτά προηγούμενης δημοσίευσής μας καθώς και με δύο επιπλέον γραμμικά μοντέλα, το ατομικών συνεισφορών Moriguchi και των ατομικών/θραυσμάτων συνεισφορών Meylan-Howard. Η διαφορά των πειραματικών από τις υπολογισμένες τιμές συντελεστή μερισμού, το απόλυτο μέσο σφάλμα τους, το γεωμετρικό μέσο σφάλμα τους καθώς και η αλληλοσυσχέτισή τους ελήφθησαν ως κριτήρια ανάδειξης του βαθμού αξιοπιστίας των υπολογιστικών αλγορίθμων που μελετήθηκαν.

References

1. Hansch C., Leo A. (Eds.) (1995) Exploring QSAR: Fundamentals and applications in chemistry and biology, Washington D.C., American Chemical Society.
2. Testa B., Crivori P., Reist M., Carrupt P.-A. The influence of lipophilicity on the pharmacokinetic behavior of drugs: Concepts and examples. *Perspec. Drug Discov. Des.* 19 179-211, 2000.
3. Leo A., Hoekman D. Calculating log P(oct) with no missing fragments; The problem of estimating new interaction parameters. *Perspect. Drug Discov. Des.*, 18, 19-38, 2000
4. Rekker R. F., Mannhold R. (Eds.) (1992) *Calculation of Drug Lipophilicity*, Wiley-VCH, Weinheim.
5. P. Broto, G. Moreau, C. Vandycke, *Eur. J. Med. Chem.*, **1984**, 19, 71-78.
6. Ghose A.K., Crippen G.M. Atomic Physicochemical Parameters for Three-Dimensional Structure-Directed Quantitative Structure-Activity Relationships I. Partition Coefficients as a Measure of Hydrophobicity. *J. Comput. Chem.*, 7, 565-577, 1986
7. Meylan W.M., Howard P.H. Atom/fragment contribution method for estimating octanol-water partition coefficients. *J. Pharm. Sci.*, 84, 83-92, 1995
8. Moriguchi I., Hirono S., Liu Q., Nakagome I., Matsushita Y. Simple method of calculating octanol/water partition coefficient. *Chem. Pharm. Bull.* 40, 127-130, 1992
9. Mannhold R. (2006) Calculation of Lipophilicity: A classification of Methods, In: Testa B., Kramer S.D., Wunderli-Allenspach H., Folkers G. (Eds). *Pharmacokinetic Profiling in Drug Research*, Wiley, VCH, Zurich, pp 333-352.
10. Tetko I. V. Neural Network Studies. 4. Introduction to Associative Neural Networks *J. Chem. Inf. Comput. Sci.* 42, 717-728, 2002,
11. Kier L.B., Hall L.H. (1999) *Molecular Structure Description: The Electrotopological State*. ed., London: Academic Press. p 245.43
12. Hall L.H., Kier L.B. Electrotopological state indices for atom types - a novel combination of electronic, topological, and valence state information. *J. Chem. Inf. Comput. Sci.* 35, 1039-104, 1995.
13. Testa B., Carrupt P.-A., Gaillard P., Tsai R.-S. (1996) Intramolecular Interactions encoded in Lipophilicity: Their nature and significance. In Pliska V, Testa B, van de Waterbeemd H, editors. *Lipophilicity in Drug Action and Toxicology*, VCH, Weinheim, p 49-71.
14. El Tayar N., Testa B., Carrupt P.-A. Polar intermolecular interactions encoded in partition coefficients: an indirect estimation of hydrogen-bond parameters of polyfunctional solutes. *J. Phys. Chem.* 96:1455-1459, 1992.
15. Tsantili-Kakoulidou A. The dual nature of lipophilicity. Recent views and anatomy of partition coefficients, *Pharmakeftiki*, 6, 11-23, 1993.
16. Bodor N., Huang M.-J. An extended version of a novel method for the estimation of partition coefficients. *J. Pharm. Sci.*, 81, 272-281, 1992.
17. Tehrany E. A., Fournier F., Desobry S. Simple method to calculate octanol-water partition coefficient of organic compounds. *J. Food. Eng.* 64, 315-320, 2004.
18. Petrauskas A. A., Kolovanov E. A. ACD/LogP Method Description. *Persp. Drug Discov. Des.* 19, 1-19, 2000.
19. ACD/LogP Prediction Software. An Overview and Comparison; ACD, Inc.: 133 Richmond St. W., Suite 605, Toronto ON M5H 2L3, Canada, 2001.
20. Wang R., Gao Y., Lai, L. Calculating Partition Coefficient by Atom- Additive Method. *Persp. Drug Discov. Des.* 19, 47-66, 2000.
21. Japertas P., Didziapetris R., Petrauskas A. A. Fragmental methods in the design of new compounds. Applications of The Advanced Algorithm Builder *Quant. Struct.-Act.-Relat.* 21, 23-37, 2002.
22. Csizmadia F., Tsantili-Kakoulidou A., Panderi I., Darvas F. Prediction of Distribution Coefficient from Structure: 1. Estimation Method. *J. Pharm. Sci.* 86, 865-871, 1997.
23. MedChem Designer(TM) version 2.5.0.8, Copyright © 2011-2012 Simulations Plus, Inc. (<http://www.simulations-plus.com>)
24. Tetko I. V., Tanchuk V. Y. Application of associative neural networks for prediction of lipophilicity in ALOGPS 2.1 program. *J. Chem. Inf. Comp. Sci.* 42, 1136-1145, 2002.
25. BioByte Corp., 201 W. Fourth Street, Claremont, CA.
26. Syracuse Research Corporation. Physical/ Chemical Property Database (PHYSPROP); SRC Environmental Science Center: Syracuse, N.Y.
27. Tetko I.V., Poda G.I., Ostermann C., Mannhold R. Large-scale evaluation of log P predictors: local corrections may compensate insufficient

- accuracy and need of experimentally testing every other compound. *Chem Biodivers.* 6, 1837-44, 2009.
28. Tsantili-Kakoulidou A., Varvaresou A., Siatra-Papastaikoudi Th., Raevsky O. A comprehensive investigation of the partitioning and hydrogen bonding behavior of Indole containing derivatives of 1,3,4-thiadiazole and 1,2,4-triazole by means of experimental and calculative approaches. *Quant.Struct.-Act. Relat.* 18, 482-489, 1999.
 29. Vrakas D., Tsantili-Kakoulidou A., Hadjipavlou-Litina D. Exploring the consistency of logP estimation for substituted coumarins, *Quant. Struct.-Act. Relat.* 22, 622-629, 2003.
 - [30. Chrysanthakopoulos M., Koletsou A., Nicolaou I., Demopoulos V.J., Tsantili-Kakoulidou A. Lipophilicity study of pyrrol-acetic acid derivatives, inhibitors of aldose reductase. Partitioning experiments versus predictions in relationships with biological activity. *Quant. Struct.-Act. Relat.* 28, 551-560, 2009.
 31. Cheng T., Zhao Y., Li X., Lin F., Xu Y., Zhang X., Li Y., Wang R., Lai L., Computation of octanol-water partition coefficients by guiding an additive model with knowledge. *J. Chem. Inf. Model.* 47, 2140-2148, 2007.
 32. ACD/LogP Prediction Software. An Overview and Comparison; ACD, Inc.: 133 Richmond St. W., Suite 605, Toronto ON M5H 2L3, Canada, 2001.
 33. Tetko I.V., Poda G.I. Application of ALOGPS 2.1 to predict log D distribution coefficient for Pfizer proprietary compounds. *J. Med. Chem.* 47, 5601-5604, 2004.
 34. Tetko I.V., Bruneau P. Application of ALOGPS to predict 1-octanol/water distribution coefficients, logP, and logD, of AstraZeneca in-house database. *J. Pharm. Sci.* 93, 3103-3110, 2004.
 35. <http://www.eadmet.com/en/physprop.php>

INsPiRE: An FP7 project integrating the Greek cancer research potential with European excellence.

INsPiRE is a EU-financed FP7 project at its full implementation. INsPiRE aims at the scientific and technological reinforcement of the National & Kapodistrian University of Athens *Basic and Translational Cancer Research Group* (NKUA-CRG) and its integration into the more advanced core of the European cancer research area. The central objective of the project is to succeed full convergence of NKUA-CRG with the European research area of excellence by facilitating transformation of an existing multidisciplinary high-quality research, technological and education unit into a research entity unique in Greece and Southeastern Europe, comparable to other outstanding research or educational EU units. This objective is pursued via a number of concerted actions and a carefully designed work plan coordinated by Professor C. Kittas and sustained by 5 separate working groups, namely the groups of Molecular Carcinogenesis (Prof. Vassilis Gorgoulis, Medical school), Natural Products Chemistry (Prof. L. Skaltsounis, School of Pharmacy), Tumor Biomarkers (Assoc. Prof. A. Scorilas, dept. of Biology, Molecular-Cellular Ageing & Carcinogenesis (Assist. Prof. I. Trougakos, dept. of Biology) and Cancer immunology (Assist. Prof. R. Tsioulas, dept. of Biology). Among the currently implemented actions of INsPiRE are mobilisation, increase of visibility and exposure of the NKUA-CRG human resources to an international scientific environment via two-way secondments, conferences, invited lectures and recruitment of experienced researchers. To this end, INsPiRE engages a wide network of EU partners and their corresponding institutes including Professors J. Bartek (Institute of Cancer Biology, Denmark), G. Griffiths (University of Oslo, Norway), T. Halazonetis

(University of Geneva, Switzerland), J. Lindon (Imperial College London, UK), G. Pawelec (University of Tuebingen, Germany), J. Ouazzani (CNRS, France), M. Schmitt (Technical University of Munich, Germany), L. Scorrano (University of Geneva, Switzerland), S. Stevanovic (University of Tuebingen, Germany) and A. Ullrich (Max Planck Institute, Germany). Strengthening of existing links and transfer of know-how from those strategic partners located in some of the most eminent European research entities is a principal INsPiRE axis. An additional axis of INsPiRE is acquisition of new state-of-the-art instrumentation related to methodologies like laser tissue microdissection and capture, confocal laser scanning microscopy and live cell imaging, tissue cryo-sectioning and freeze substitution for advanced immuno-electron microscopy, nucleic acid sequencing, advanced flow cytometry, high throughput isolation and characterization of novel bioactive compounds, as parts of a drug screening platform. This platform is enabling NKUA-CRG to facilitate lead compound discovery and offer cost-effective solutions to biotechnological or pharmaceutical companies. Finally, popularization, promotion and dissemination of research activities to the scientific community and the stakeholders is a third major axis of INsPiRE. The scientific and technological reinforcement of NKUA-CRG facilitates the enhancement of its existing scientific, educational and technological strengths, thus leading to the establishment of a research entity unique in Greece and Southeastern Europe, fully integrated to the current European research system. For more information on INsPiRE project and related events please visit the project website at www.inspire.uoa.gr.

ΕΛΛΗΝΙΚΗ ΦΑΡΜΑΚΕΥΤΙΚΗ ΕΤΑΙΡΕΙΑ
ΕΜΜ. ΜΠΕΝΑΚΗ 30/ΑΚΑΔΗΜΙΑΣ



HELLENIC PHARMACEUTICAL SOCIETY
Head office: 30 EMM. BENAKIS STREET

Στο πλαίσιο των σκοπών της Ελληνικής Φαρμακευτικής Εταιρείας (Ε.Φ.Ε.), το Διοικητικό Συμβούλιο αποφάσισε, σε συνεργασία με τους τοπικούς Φαρμακευτικούς συλλόγους, σειρά Επιμορφωτικών Ημερίδων για Φαρμακοποιούς, σε διάφορες πόλεις της Ελλάδας.

Σκοπός των Ημερίδων αυτών, είναι η συνεχής ενημέρωση και επιμόρφωση όλων των Μελών της Ε.Φ.Ε., καθώς και **όλων των Φαρμακοποιών**, για την πρόοδο και τα επιτεύγματα στον Τομέα της Επιστήμης του Φαρμάκου.

Τις Ημερίδες θα παρακολουθούν, ελεύθερα, εκτός, από τα Μέλη της Ε.Φ.Ε., όλοι οι Φαρμακοποιοί και άλλοι επιστήμονες οι οποίοι ενδιαφέρονται για το «Φάρμακο».

Θα χορηγείται Πιστοποιητικό Παρακολούθησης.

Ήδη μέσα στον Φεβρουάριο και Μάρτιο, πραγματοποιήθηκαν οι Επιμορφωτικές Ημερίδες με μεγάλη συμμετοχή, στους εξής Φαρμακευτικούς Συλλόγους: Φ.Σ. Αρκαδίας, στην πόλη της Τρίπολης, την Κυριακή 23/2/2014, Φ.Σ. Ροδόπης, στην πόλη της Κομοτηνής, την Κυριακή 9/3/2014, Φ.Σ. Αργολίδας, στην πόλη του Ναυπλίου, την Κυριακή 16/3/2014 και Φ.Σ. Κορινθίας, την Κυριακή 30/3/2014.

Για τους επόμενους μήνες, το πρόγραμμα των ενημερωτικών σεμιναρίων έχει διαμορφωθεί ως εξής:

- Κυριακή, 30/3/2014, Φαρμακευτικός Σύλλογος Κορινθίας,
- Κυριακή, 6/4/2014, Φαρμακευτικός Σύλλογος Καστοριάς,
- Κυριακή 27/4/2014, Φαρμακευτικός Σύλλογος Λέσβου,
- Κυριακή 11/5/2014, Φαρμακευτικός Σύλλογος Έβρου,
- Σάββατο 17/5/2014, Φαρμακευτικός Σύλλογος Τρικάλων,
- Σάββατο, 24/5/2014, Φαρμακευτικός Σύλλογος Μαγνησίας.

Θα καλυφθούν θέματα, τα οποία διαμορφώθηκαν σύμφωνα με τις ανάγκες που εξέφρασαν οι φαρμακοποιοί, όπως:

- | | |
|---|---|
| 1. Γενόσημα φάρμακα, | 7. Τεχνολογία Καλλυντικών-Κοσμετολογία, |
| 2. Φαρμακοεπαγρύπνηση, | 8. Φυτοθεραπεία, |
| 3. Καινοτόμα Φάρμακα, | 9. Ορθή Φαρμακευτική Πρακτική, |
| 4. Μεταβολικά Νοσήματα - Σακχαρώδης Διαβήτης, | 10. Συμπληρώματα Διατροφής. |
| 5. Μητρικός Θηλασμός, | |
| 6. Διακοπή Καπνίσματος, | |

Μη διστάσετε να επικοινωνήσετε μαζί μας για να καλύψουμε τις ανάγκες του δικού σας Φαρμακευτικού Συλλόγου, κατά των β' Κύκλο Επιμορφωτικών Ημερίδων της ΕΦΕ.

Τηλέφωνο Επικοινωνίας: 211 100 1764, e-mail: f.ka@zita-congress.gr

Για περισσότερες πληροφορίες σχετικά με τις ώρες και τον ακριβή τόπο διεξαγωγής, τη θεματολογία και το πλήρες πρόγραμμα, επικοινωνήστε μαζί μας, καθώς διαφοροποιούνται ανάλογα με τον Φαρμακευτικό Σύλλογο.

Τηλέφωνο Επικοινωνίας: 211 100 1774, e-mail: f.tz@zita-congress.gr

Επίσης, πλοηγηθείτε στην ιστοσελίδα της ΕΦΕ: www.efe.org.gr

Ημερίδες Επιμόρφωσης & Εκπαίδευσης Φαρμακοποιών Φαρμακείου από την Ελληνική Φαρμακευτική Εταιρεία

Η Ελληνική Φαρμακευτική Εταιρεία, αναγνωρίζοντας την ανάγκη για συνεχή επιμόρφωση των φαρμακοποιών εν όψει των δραματικών εξελίξεων στην Επιστήμη και Τεχνολογία αλλά και στις κοινωνικές απαιτήσεις της πρωτοβάθμιας φροντίδας υγείας, έχει προγραμματίσει σειρά “Ημερίδων Επιμόρφωσης & Εκπαίδευσης Φαρμακοποιών Φαρμακείου” σε διαφορετικές πόλεις στην Ελλάδα σε συνεννόηση με τους τοπικούς Φαρμακευτικούς Συλλόγους. Οι Ημερίδες περιλαμβάνουν δυο ομιλίες σε θέματα επιλογής των φαρμακευτικών συλλόγων και ένα “Φαρμακευτικό Φροντιστήριο με θέμα που επιλέγεται από το Δ.Σ. της Ε.Φ.Ε. Ήδη πραγματοποιήθηκαν με ιδιαίτερη επιτυχία οι δυο πρώτες Ημερίδες σε Τρίπολη και Κομοτηνή σε συνεργασία με τον Φαρμακευτικό Σύλλογο Αρκαδίας και τον Φαρμακευτικό Σύλλογο Ροδόπης αντίστοιχα.



Η Ημερίδα στην Τρίπολη έλαβε χώρα την Κυριακή 23/2/2014. Έπειτα από επιθυμία που εξέφρασε ο Φ.Σ. Αρκαδίας, τα θέματα που αναπτύχθηκαν, ήταν η «Φαρμακοεπαγρύπνηση» από την Καθ. κ. Χατζηαντωνίου Σοφία, καθώς και η «Φαρμακευτική Φροντίδα – Ορθή Φαρμακευτική Πρακτική», από την Καθ. κ. Τσαντίλη-Κακουλίδου Άννα. Ακολούθησε «Φαρμακευτικό Φροντιστήριο», το οποίο εισηγήθηκε η κ. Χατζηαντωνίου, με θέμα την «Σταθερότητα των Φαρμακοτεχνικών Προϊόντων και Ιδιοσκευασμάτων».

Η συμμετοχή και η ενεργός παρουσία πενήντα (50) φαρμακοποιών καθώς και η πολύτιμη συμβολή της Προέδρου του Φ.Σ. Αρκαδίας, Κας Φράγκου, επέδρασαν καταλυτικά στην επιτυχία της Ημερίδας.

Η Ημερίδα στην Κομοτηνή έλαβε χώρα την Κυριακή 9/3/2014 στο ευρύχωρο αμφιθέατρο της Περιφέρειας Ροδόπης. Τα θέματα που αναπτύχθηκαν μετά από επιλογή από τον Φ.Σ. Ροδόπης ήταν “Ο ρόλος του φαρμακοποιού σε θέματα ενημέρωσης και διαχείρισης του σακχαρώδους διαβήτη” από την Δρ. κ. Πεγκλίδου Κυριακή και “Μητρικός θηλασμός-

Δώρο ζωής” από τον Δρ. κ. Αδαμίδη Δημήτριο. Το «Φαρμακευτικό Φροντιστήριο», πραγματοποιήθηκε από την Καθ. κ. Τσαντίλη-Κακουλίδου Άννα με θέμα “Φάρμακο-Προϊόν υψίστης τεχνολογίας”. Η εκδήλωση ήταν ανοικτή στο κοινό και παρευρέθηκαν περίπου εβδομήντα (70) άτομα. Στην Ημερίδα συμμετείχε με ενεργή παρουσία των μελών του ο “Σύλλογος Διαβητικών Ν. Ροδόπης”. Οι συμμετέχοντες έδειξαν ιδιαίτερο ενδιαφέρον και συνέβαλαν με τις ερωτήσεις και τα σχόλιά τους στη δημιουργία διαδραστικής ατμόσφαιρας και στην επιτυχία της εκδήλωσης. Η ΕΦΕ ευχαριστεί τον Πρόεδρο του Φαρμακευτικού Συλλόγου Ροδόπης κ. Τσαμπέκο, καθώς και τον Αντιπρόεδρο κ. Κραϊόγλου για τις προσπάθειες τους στη διοργάνωση της ημερίδας.

Τέλος, την Κυριακή 16 Μαρτίου 2014 πραγματοποιήθηκε στην πόλη του Ναυπλίου η τρίτη Επιμορφωτική Ημερίδα σε συνεργασία με τον Φ.Σ. Αργολίδας και την Πρόεδρο κ. Κατσουλάκου Αριστέα. Παρουσία πενήντα (50) συμμετεχόντων αναπτύχθηκε το φλέγον θέμα της «Φαρμακοεπαγρύπνησης» από τον καθ. κ. Δεμέτσο Κωνσταντίνο και στη συνέχεια το θέμα των «Συμπληρωμάτων Διατροφής – Φυτοθεραπείας» από την καθ. κ. Σκαλτσά Ελένη. Το Φαρμακευτικό Φροντιστήριο έγινε από τον Καθ. κ. Δεμέτσο Κωνσταντίνο και αφορούσε τη Σταθερότητα Φαρμακευτικών Προϊόντων και Ιδιοσκευασμάτων. Ακολούθησαν ερωτήσεις και συζήτηση, που ανέδειξαν προβληματισμούς και μεγάλο ενδιαφέρον εκ μέρους των φαρμακοποιών.



Η Ε.Φ.Ε. ευελπιστεί στην περαιτέρω προώθηση των σκοπών των Επιμορφωτικών Ημερίδων, δηλαδή τη συνεχή κατάρτιση των Φαρμακοποιών Φαρμακείου σε επιστημονικά θέματα και εξελίξεις που αφορούν στο Φάρμακο, στην πρωτοβάθμια φροντίδα υγείας και στο ρόλο του επιστήμονα φαρμακοποιού, καθώς και την ανταλλαγή απόψεων, σκέψεων και προβληματισμών, μέσα από γόνιμο διάλογο μεταξύ επιστημόνων που καθημερινά αντιμετωπίζουν κοινές προκλήσεις.

Περισσότερες πληροφορίες σχετικά με τις Ημερίδες Επιμόρφωσης & Εκπαίδευσης Φαρμακοποιών Φαρμακείου υπάρχουν στην ιστοσελίδα της Ελληνικής Φαρμακευτικής Εταιρείας (Ε.Φ.Ε.) στη διεύθυνση www.efe.org.gr

Ευχαριστούμε θερμά τις παρακάτω εταιρείες, οι οποίες συμβάλλουν στην προώθηση της επιστημονικής γνώσης, μέσω της ενεργούς συμμετοχής και παρουσίας τους στις Επιμορφωτικές Ημερίδες της Ελληνικής Φαρμακευτικής Εταιρείας.

Χρυσοί Χορηγοί



Αργυροί Χορηγοί



Χορηγοί



Υποστηρικτές



Χορηγός Επικοινωνίας



www.drugdiscoverytodelivery2014.com



Ist International Congress:

from drug discovery
to drug delivery

Chair of the Congress:

Prof. Gregory Gregoriadis

Co-chairs:

Prof. Costas Demetzos

Prof: A. Tsantili-Kakoulidou

**13-15
November
2014**

Royal Olympic Hotel
Athens, Greece

Organizers:



Hellenic Pharmaceutical Society



Hellenic Society of Medicinal Chemistry



International Liposome Society

Organizational Support



Contact: Mrs. Irene Katti,
tel. 0030 211 1001783,
i.ka@zita-congress.gr



30 years of excellence, inspiration, efficiency
Congresses & Events / Travels / Associations



ISO 9001
ISO 14001

We inspire results

1st klm Peanias-Markopoulou Avenue, 19002, Peania, T: +30 211 1001 777, F: +30 210 6642 116

info@zita-congress.gr, www.zita-congress.gr

Εκφραστείτε ελεύθερα!

Συστήματα μέτρησης
γλυκόζης του αίματος.



Για τον έλεγχο
του διαβήτη

- Αυτόματη κωδικοποίηση
- Άμεση μέτρηση σε 5 δευτερόλεπτα
- Μνήμη 500 μετρήσεων με ημερομηνία & ώρα
- Αυτόματος υπολογισμός μέσου όρου 1,7,14, 30,90 ημερών
- Φωτιζόμενη οθόνη
- Θύρα USB για μεταφορά δεδομένων σε Η/Υ



BIONIME



KARABINIS MEDICAL

ΑΠΟΚΛΕΙΣΤΙΚΟΣ ΑΝΤΙΠΡΟΣΩΠΟΣ ΓΙΑ ΤΗΝ ΕΛΛΑΔΑ ΚΑΙ ΤΗΝ ΚΥΠΡΟ: KARABINIS MEDICAL SA. • Λ. ΛΑΥΡΙΟΥ 151, ΠΑΙΑΝΙΑ 190 02 ΑΘΗΝΑ
ΤΗΛ: 210 66.45.751, 210 66.45.837, FAX: 210 66.46.000 • WEB SITE: www.karabinismedical.gr • EMAIL: info@karabinismedical.gr
www.hypertensiondiabetescorner.gr.com



www.facebook.com/KarabinisMedical

transit

ELUSANES

Συμπλήρωμα διατροφής
Ακακία-Δαμάσκηνο-Οξυφόνικας
(tamarin)
100% φυσικής προέλευσης

URISANOL

gelules

Συμπλήρωμα διατροφής
Cranberry
36 mg προανθοκυανιδινών



» Δύο νέα προϊόντα

από την



Pierre Fabre
FARMAKA S.A.

Για πληροφορίες επικοινωνήστε με την εταιρία
Τηλ.: 210 72 34 582





Αναγεννητικός παράγοντας
που επουλώνει τα έλκη διαβητικού ποδιού αποτελεσματικά¹

CACIPLIQ[®] 20
RGTA[®]



A.K.P Cac 12_2013

ADMINE / ► dda art

Τώρα γίνεται.

● Σε σύντομο χρονικό διάστημα ● Με εύκολη εφαρμογή ● Μειώνοντας δραστικά τον πόνο

1. I.Slim et al, Journal of Wound Technology 2012;17



ΦΑΡΜΑΣΕΡΒ - ΛΙΛΛΥ Α.Ε.Β.Ε. 15ο χλμ. Εθνικής Οδού Αθηνών-Λαμίας, 14564 Κηφισιά,
τηλ.: 210 6294600 fax: 210 6294610, Τ.Θ. 51288

Γραφείο Θεσσαλονίκης: Αδριανουπόλεως 24, 551 33 Καλαμαριά, Θεσσαλονίκη τηλ.: 2310 480160
Για παραγγελίες: τηλ.: 210 6294629 fax: 210 6294630 e-mail: orders@lilly.gr www.lilly.gr